FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1930

THÈSE

N° 489

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Roger, Raphaël CATTAN

Né le 20 mars 1903 à Tunis (Tunisie)

Interne des Hôpitaux de Paris

UNE NOUVELLE MÉTHODE D'ENSEMENCEMENT DU SANG PENDANT LA VIE : LA MICROLEUCOCYTOCULTURE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES SEPTICÉMIES

Président : M. LEMIERRE, *Professeur*

PARIS

LIBRAIRIE LOUIS ARNETTE

2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2

1930

954

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1930 — **THÈSE** — N° _

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Roger, Raphaël CATTAN
Né le 20 mars 1903 à Tunis (Tunisie)
Interne des Hôpitaux de Paris

UNE NOUVELLE MÉTHODE D'ENSEMENCEMENT DU SANG PENDANT LA VIE : LA MICROLEUCOCYTOCULTURE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES SEPTICÉMIES

Président : M. LEMIERRE, *Professeur*

PARIS
LIBRAIRIE LOUIS ARNETTE
2, RUE CASIMIR DELAVIGNE, 2

1930

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIERE.
Anatomie médico-chirurgicale et chirurgie expérimentale	CUNÉO.
Physiologie	ROGER.
Physique médicale	STROHL.
Chimie générale	DESGREZ.
Bactériologie	LEMIERRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	BAUDOUIN.
Pathologie médicale	CLERC.
Pathologie chirurgicale	LENORMANT.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	LOEPER.
Hygiène et Médecine préventive	TANON.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MENETRIER
Pathologie expérimentale et comparée	RATHERY.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	M. VILLARET.
Clinique médicale	CARNOT. BEZANÇON. ACHARD. Marcel LABBÉ
Hygiène et clinique de la première enfance	LEREBOULLET.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	TEISSIER.
Clinique chirurgicale	DELBET. HARTMANN. LEJARS. GOSSET.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	LEGUEU.
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE. BRINDEAU. JEANNIN.
Clinique gynécologique	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBREDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	VAQUEZ.
Clinique oto-rhino-laryngologique	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Clinique de la tuberculose	Léon BERNARD.
Professeur sans chaire	MAUCLAIRE.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.	
ALAJOUANINE	Neurologie et Psychiatrie.
AUBERTIN	Pathologie médicale.
BÉNARD (Henri)	Pathologie médicale.
BINET	Physiologie.
BLANCHETIÈRE	Chimie biologique.
BROCQ	Pathologie chirurgicale.
BRULÉ	Pathologie médicale.
CADENAT	Pathologie chirurgicale.
CATHALA	Pathologie médicale.
CHABROL	Pathologie médicale.
CHEVALLIER	Pathologie médicale.
De GAUDART D'ALLAINES	Pathologie chirurgicale.
DOGNON	Physique.
DONZELOT	Pathologie médicale.
ECALLE	Obstétrique.
FEY	Urologie.
GARNIER	Pathologie expérimentale.
GASTINEL	Bactériologie.
GATELLIER	Pathologie chirurgicale.
GIROUD	Histologie.
HARVIER	Pathologie médicale.
HOVELACQUE	Anatomie.
HUTINEL	Pathologie médicale.
JOANNON	Hygiène.
JOYEUX	Parasitologie.
LABBÉ (Henri)	Chimie biologique.
LAROCHE (Guy)	Pathologie médicale.
LEMAITRE	Oto-rhino-laryngologie.
LEROUX	Anatomie pathologique
LEVEUF	Pathologie chirurgicale.
LEVY-VALENSI	Neuro-psychiatrie.
LIAN	Pathologie médicale.
MERCIER (Fernand)	Pharmacologie.
MILLOT	Histologie.
MONDOR	Pathologie chirurgicale
MOREAU	Pathologie médicale.
MOULONGUET	Pathologie chirurgicale.
MOURE	Pathologie chirurgicale
MULON	Histologie.
OBERLING	Anatomie pathologique.
OLIVIER	Anatomie.
PIEDELIÈVRE	Médecine légale.
PORTES	Obstétrique.
QUENU	Pathologie chirurgicale.
RICHET Fils	Physiologie.
SÉZARY	Dermatologie et syphiligraphie.
VALLERY-RADOT (Pasteur)	Pathologie médicale.
VAUDESCAL	Obstétrique.
VELTER	Ophtalmologie.
VERNE	Histologie.
VIGNES	Obstétrique.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.	
BUSQUET	Pharmacologie.
GUÉNIOT	Obstétrique.
LEQUEUX	Obstétrique.
NEVEU LEMAIRE	Parasitologie.
REFTERER	Histologie.
ZIMMERN	Physique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE

à titre permanent

MM.		MM.	
ABRAMI . . .	Clinique médicale.	CHEVASSU. .	Clinique chirurgicale.
CHIRAY. . . .	Clinique médicale.	HEITZ-BOYER	Clinique chirurgicale.
DEBRE	Clinique médicale.	MATHIEU. . .	Clinique chirurgicale.
DUVOIR. . . .	Clinique médicale.	MOCQUOT . .	Clinique chirurgicale.
FIESSINGER .	Clinique médicale.	PROUST . . .	Clinique chirurgicale.
LAIGNEL-LAVASTINE . .	Clinique médicale.	SCHWARTZ. .	Clinique chirurgicale.
LERI	Clinique médicale.	LE LORIER . .	Clinique obstétricale.
AUVRAY . . .	Clinique chirurgicale.	LEVY-SOLAL.	Clinique obstétricale.
BASSET. . . .	Clinique chirurgicale.	METZGER. . .	Clinique obstétricale.

V. — CHARGÉS DE COURS

MM. MAUCLAIRE, professeur sans chaire.	Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez l'adulte pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes adultes.
FREY	Stomatologie.
CHAILLEY-BERT	Education physique.
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique.
WEIL-HALLÉ.	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions mises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON COUSIN

GIACOMO CARDOSO

Etudiant en Médecine

A MA GRAND'MÈRE

A MON PÈRE

le Docteur ALBERT CATTAN

Membre du Grand Conseil de Tunisie

Mon premier maître dans la médecine.
Mon professeur d'énergie.

A MA MÈRE

A MA FIANCÉE

A MON FRÈRE

En souvenir de nos années d'études.

A TOUS LES MIENS — A MES AMIS

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

M. le Professeur ANDRÉ LEMIERRE

En témoignage de respect, de reconnaissance et d'affectueuse admiration.

A MON MAITRE

M. le Professeur agrégé NOEL FIESSINGER

Qui m'a inspiré la plus grande partie de ce travail, m'a aidé de ses conseils, m'a donné le goût de la recherche scientifique ; en témoignage de gratitude et de respectueuse affection.

A MES MAITRES

M. le Docteur I. BRUHL

M. Le Docteur GUILLEMOT

M. le Professeur agrégé HARVIER

Dont je m'honore d'avoir été l'interne et qui n'ont cessé de me témoigner les marques de leur bienveillante sollicitude.

M. le Docteur MILIAN

En souvenir d'une excellente année d'externat.

M. le Docteur MICHEL LÉON-KINDBERG

En témoignage d'inaltérable affection et de profonde reconnaissance.

M. le Docteur JEAN TROISIER

Qui m'a fait le très grand honneur de m'accepter comme assistant.

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

Stage

1920-1921. — M. le Professeur SERGENT.
M. le Professeur H. HARTMANN.
1921-1922. — M. le Professeur A. LEMIERRE.

Externat

1921-1922. — M. le Professeur LEGUEU.
M. le Professeur agrégé GARNIER.
1922-1923. — M. le Docteur LENOIR.
1923-1924. — M. le Docteur MILIAN.

Internat

1927. — M. le Docteur I. BRUHL.
1928. — M. le Professeur agrégé Noel FIESSINGER.
1929. — M. le Docteur GUILLEMOT.
1929. — M. le Professeur agrégé P. HARVIER.
1930. — M. le Professeur André LEMIERRE.

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

MM. les Professeurs agrégés MOCQUOT, Paul MATHIEU.

MM. les Docteurs MARQUÉZY, SAUVÉ, BOULIN, chirurgiens et médecins des hôpitaux.

A MES CONFÉRENCIERS

Externat

MM. les Docteurs PÉRIN et THALHEIMER.

Internat

M. le Professeur agrégé ALAJOUANINE.

M. le Docteur OBERLIN, chirurgien des hôpitaux.

MM. les Docteurs THALHEIMER et TURQUÉTY.

A MON AMI DE TOUJOURS

M. le Docteur Léon MOATTI

DU MÊME AUTEUR

Deux cas de gangrène pulmonaire post-cancéreuse. — *Société médicale des hôpitaux*, 28 octobre 1927 (en collaboration avec MM. Léon-Kindberg et Grandclaude),

Pneumopathie à expectoration fétide fuso-spirillaire. — *Société médicale des hôpitaux*, 2 décembre 1927 (en collaboration avec M. Léon-Kindberg).

Recherches sur les spirochétoses putrides broncho-pulmonaires. — *Société médicale des hôpitaux*, 4 mai 1928 (en collaboration avec MM. Léon-Kindberg et P. Adida.

A propos de l'association de granulomatose maligne et de tuberculose. — *Société médicale des hôpitaux*, 18 mai 1928 (en collaboration avec M. Noël Fiessinger).

Les spirochétoses pleuro-pulmonaires. — *Revue générale Gazette des hôpitaux*, 26 mai 1928 et 8 juin 1928 (en collaboration avec P. Adida.

Les pneumopathies putrides à spirochètes. — *Paris médical*, 23 juin 1928 (en collaboration avec M. Léon Kindberg et P. Adida).

Un cas de gros foie polykystique. — *Société médicale des hôpitaux*, 13 juillet 1928 (en collaboration avec M. Noël Fiessinger).

Le pouvoir bactéricide du sérum et du plasma à l'égard du bacille d'Eberth. — *Presse médicale*, 19 septembre 1928 (en collaboration avec M. Noël Fiessinger).

Evolution d'un abcès pulmonaire para-pneumonique. Guérison spontanée. — *Société médicale des hôpitaux*, 19 octobre 1928.

La microleucocytoculture. — *Société médicale des hôpitaux*, 26 octobre 1928 (en collaboration avec M. Noël Fiessinger).

Septicémie typhique et infection vésiculaire. Retentissement réciproque. — *Société médicale des hôpitaux*, 30 novembre 1928 (en collaboration avec M. Noël Fiessinger).

Sur la présence d'hématies nucléées dans le sang au cours des endocardites à streptocoques. — *Le sang*, Tome III, N° 2, 1929 (en collaboration avec Mme Laur).

La microleucocytoculture. *Le sang*, Tome III, N° 3, 1929 (en collaboration avec M. Noël Fiessinger).

Cysto-adénome de la tête du pancréas. — *Société médicale des hôpitaux*, 26 avril 1929 (en collaboration avec M. Noël Fiessinger).

Sur un cas de néphrose lipoïdique ; Importance du régime déchloruré. — *Société médicale des hôpitaux*, 16 mai 1930 (en collaboration avec MM. André Lemierre, Laudat et Rudolf).

Deux cas de suppuration pulmonaire traités par les méthodes bronchoscopiques. — *Société médicale des hôpitaux*, 4 juillet 1930 (en collaboration avec MM. Lemierre, Léon-Kindberg et Soulas).

Les néphrites azotémiques dans la fièvre typhoïde. — *Paris médical*, N° 42, 18 octobre 1930 (en collaboration avec M. André Lemierre).

AVANT-PROPOS

AVANT-PROPOS

L'hémoculture a été, dès le début, à la base de l'étude des maladies infectieuses. Elle a présidé, avec la découverte, par Davaine, de la bactéridie charbonneuse dans le sang des cobayes infectés, à la naissance même de la bactériologie. C'est par hémoculture que Pasteur isola le streptocoque au cours de l'infection puerpérale ; c'est à ce procédé que Talamon dut de découvrir le pneumocoque.

Depuis que de progrès, que d'éclaircissements, que de découvertes ! L'isolement des paratyphoïdes, celui de la fièvre de Malte, la connaissance des colibacillémies, des endocardites infectieuses, la découverte des méningococcémies, des septicémies à gonocoques, à pneumobacilles de Friedlander, à bacille perfringens, — pour ne parler que des principales — c'est à cette méthode que nous les devons.

En 1904 la thèse désormais classique de notre maître André Lemierre groupe les faits épars dans la littérature, apporte une quantité considérable de nouvelles observations, résume ce que l'on est en droit d'attendre de l'ensemencement du sang pendant la vie. Avec les

travaux de Lenhartz, Shottmuller, Busquet, Courmont, Widal, Sacquepée et de très nombreux autres auteurs, cet ouvrage contribue grandement à rendre systématique l'hémoculture au cours des maladies infectieuses.

Que de fois, cependant, ne sommes-nous pas arrêtés par une infection dont nous n'arrivons pas à percer le mystère ? Qui n'a eu alors la sensation de l'impuissance de l'hémoculture telle qu'elle est habituellement pratiquée ? qui ne s'est demandé de quel perfectionnement technique il faudrait disposer pour saisir un germe insaisissable, que l'on retrouve quelquefois dans les urines et qui doit pourtant passer à certains moments dans le sang ?

Shottmuller, Boez, par la pratique des hémocultures en milieu solide ont réalisé, dans ce sens, un important progrès.

Les résultats qu'ils obtiennent semblent plus constants, plus fidèles. Ils réussissent à identifier des septicémies anaérobies qui sans leurs procédés seraient passées inaperçues.

Du même ordre sont les avantages de notre méthode. Grâce à elle dans bien des cas nous avons pu identifier des infections au cours desquelles les hémocultures demeuraient négatives. En collaboration avec notre maître Noël Fiessinger, nous avons, en 1928, par une Communication à la Société médicale des hôpitaux, en 1929, par un article de la revue Le Sang, indiqué les premiers résultats que nous avons obtenus. Dans ce travail, à la faveur de multiples observations et de trois années d'étude, nous exposerons quelles sont, à

notre avis, la valeur et la portée de notre méthode.

La découverte de la microleucocytoculture est quelque peu l'effet du hasard. Dans un article de *La Presse Médicale* du 19 septembre 1928, nous avons montré mon maître Noël Fiessinger et moi, quelle en avait été la genèse. C'est en étudiant le pouvoir bactéricide du plasma et du sérum à l'égard du bacille d'Eberth que s'est imposée à nous l'idée du transport intraleucocytaire des bactéries. Cette hypothèse, pour vraisemblable qu'elle nous paraisse, nous n'avons pu la démontrer absolument. Par contre nous avons mis au point, chemin faisant, une nouvelle méthode d'ensemencement du sang pendant la vie qui nous a paru plus fidèle que l'hémoculture ordinaire.

Ce travail a été effectué avec la collaboration effective et sous la direction de notre maître Noël Fiessinger, que nous ne saurions trop remercier ici.

Il comprend deux parties :

1° La première purement pratique contient l'exposé de la technique de la microleucocytoculture, celui de nos observations, la discussion des résultats obtenus ;

2° Dans la deuxième nous recherchons une explication théorique des faits que nous apportons et de la microleucocytoculture, nous essayons de tirer quelques éclaircissements sur la pathogénie des septicémies médicales.

PREMIERE PARTIE

MICROLEUCOCYTOCULTURE : TECHNIQUE ET RÉSULTATS

CHAPITRE PREMIER

—

TECHNIQUE

La microleucocytoculture est une méthode d'ensemencement du sang ne portant que sur le tapis leucocytaire obtenu par centrifugation du sang citraté.

Elle constitue un perfectionnement de l'hémoculture, qui permet, dans beaucoup de cas, d'obtenir des résultats plus constants et plus rapides que le procédé habituel.

Prélèvement du sang

On prélève par ponction veineuse, au moyen d'une seringue stérile, après désinfection de la peau à la teinture d'iode ou à l'alcool iodé, une petite quantité de sang. Dans la majorité des cas 2 à 5 cc. suffisent. Ce n'est que lorsque le microbe en cause paraît difficile à isoler qu'il est préférable de recueillir une vingtaine de centimètres cubes de sang que l'on répartit dans 4 tubes à centrifuger.

Le sang est immédiatement reçu dans un tube à centrifuger ordinaire stérile dans lequel, avant la stérilisation, ont été introduites 5 à 6 gouttes d'une solution de citrate de soude à 30 %.

Notre expérience personnelle nous a montré qu'il est important de ne pas utiliser trop de citrate de soude, l'excès de cet anticoagulant entravant dans certains cas les cultures microbiennes.

Le tube à centrifuger, passé à la flamme d'une lampe à alcool ou d'un bec Bunsen, avant et après l'introduction du liquide, est soigneusement bouché et agité de façon à bien assurer le mélange du sang et de la solution du citrate. Il est alors porté au laboratoire.

Centrifugation

On centrifuge à allure modérée : 3 minutes environ au premier plot de la centrifugeuse électrique habituellement en usage dans les laboratoires. L'important est d'obtenir un plasma parfaitement clair. La vitesse ne doit pas être excessive car alors les leucocytes se désagrègent et sont difficiles à recueillir.

Habituellement nos tubes sont centrifugés débouchés. Cette technique paraîtra certainement imparfaite et dangereuse. Elle ne pourrait être évitée que par un procédé de bouchage autre que le tampon de coton que la centrifugation rejette au fond du tube. Pratiquement, d'ailleurs, nous n'avons pas observé un pourcentage de souillures plus important par notre méthode que par

l'hémoculture ordinaire et nous ne croyons pas qu'il soit nécessaire de recourir à un autre procédé.

Ensemencement

Au terme de la centrifugation le tube se présente sous l'aspect suivant : Un culot important de globules rouges dans le fond, une couche de plasma clair à la surface et, entre les deux, un mince tapis blanchâtre composé uniquement de leucocytes et de plaquettes.

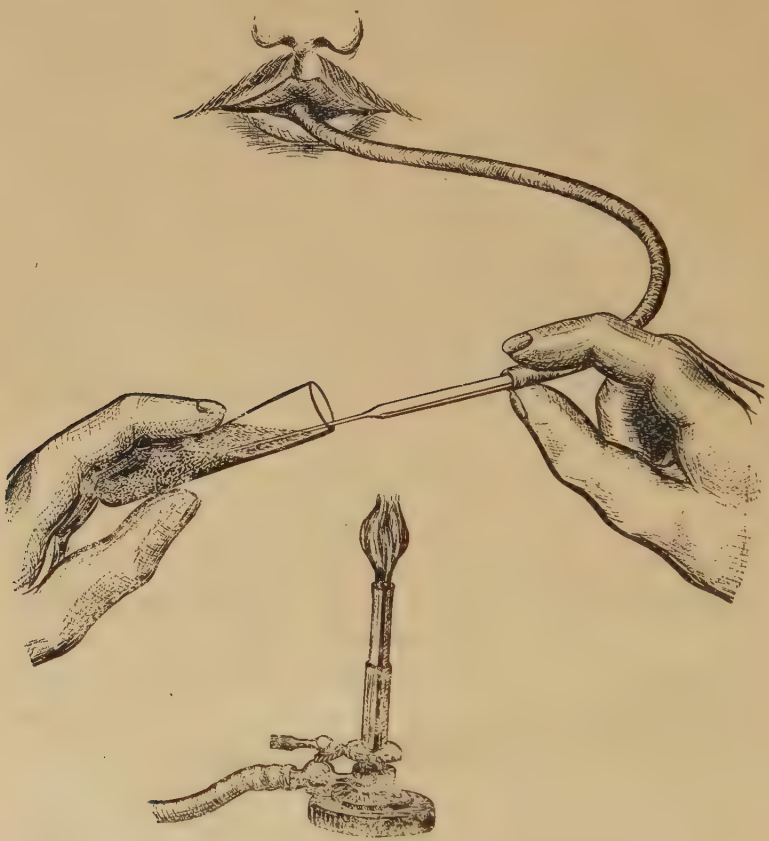
Les globules blancs forment parfois une petite pellicule facile à recueillir. D'autres fois, dans les maladies à leucocytose importante, c'est une petite couche de 1/2 millimètre de hauteur dans laquelle il est facile de puiser.

1° L'orifice du tube est passé à la flamme, puis on incline celui-ci de façon à étaler le plus possible la couche leucocytaire que l'on peut alors très aisément prélever au moyen d'une pipette armée d'un petit tube de caoutchouc et d'une sucette.

Il importe de s'attacher à ne recueillir, en même temps que les leucocytes, que la plus petite quantité possible de plasma et de globules rouges ;

2° On peut aussi centrifuger une première fois pendant peu de temps de façon à se débarrasser des hématies, recueillir le liquide trouble surnageant, pratiquer une seconde centrifugation. On obtient ainsi un culot leucocytaire plus facile à recueillir. Ce procédé est cependant peu recommandable car il expose à plus de souillures et il est plus long que le précédent.

Ainsi recueillis à la pipette les leucocytes sont introduits dans un milieu de culture. On peut utiliser tous



Technique de la microleucocytoculture
Prélèvement du tapis leucocytaire

les milieux liquides et solides. Bouillon peptoné, bouillon T, bouillon ascite, bile, gélose inclinée, etc...

Mais un des plus gros intérêts de la méthode est, comme nous le verrons, la possibilité de l'ensemencement en simples tubes de gélose Veillon comme on le ferait pour n'importe quelle sécrétion pathologique.

Lecture des résultats

La lecture des résultats est beaucoup plus facile qu'au cours de n'importe quel autre procédé d'ensemencement du sang.

a) *Milieux liquides* : Dans les milieux liquides et en particulier les bouillons la petite parcelle de tapis leucoytaire que l'on a ensemencée se dépose dans le fond du tube. Le milieu reste clair et ne se trouble qu'en cas de résultats positifs. De la sorte, on obtient du premier coup l'aspect de la culture en tube de bouillon et l'on peut reconnaître à l'occasion les ondes moirées du groupe Eberth-Coli, ou les grumeaux du streptocoque.

Dans certains cas le liquide reste clair et les germes poussent agglutinés à l'intérieur d'un coagulum fibrineux qui reste au fond du tube et qui contient aussi les leucocytes. Dissocie-t on ce coagulum au moyen d'un fil de platine, le bouillon se trouble alors secondairement.

b) *Milieux solides aérobies* : Les résultats de la microleucocytoculture sur gélose inclinée sont peu encourageants. Dans quelques cas nous avons pu par ce procédé isoler directement un bacille d'Eberth ou un streptocoque avec leurs colonies si particulières. Mais le plus

souvent nous avons eu beaucoup de peine à obtenir un résultat beaucoup plus tardif que celui que nous donnait l'ensemencement en milieu liquide.

Nous avions, au début de notre pratique, espéré que par l'ensemencement direct du tapis leucocytaire sur les milieux de différenciation, nous pourrions gagner un temps dans l'identification des bacilles du groupe Eberth. Probablement à cause du petit nombre de bacilles en circulation au cours de la typhoïde, nous n'avons jamais obtenu de résultats positifs.

c) *Microleucocytoculture anaérobie* : Les cultures en gélose Veillon sont particulièrement aisées. Il suffit d'introduire une parcelle du tapis leucocytaire dans un tube de gélose de Veillon fondue et ramenée à 45°, d'agiter ensuite le mélange de façon à en assurer l'homogénéité, pour voir se développer rapidement des colonies parfaitement visibles à travers une gélose à peine colorée par un minimum de globules rouges.

La possibilité de réaliser ainsi, à peu de frais, des ensemencements du sang, en milieu anaérobie, est un des grands avantages de notre méthode. Plus facile à pratiquer et exposant moins aux souillures que la boîte de Boez, plus aisée à lire que le grand tube de Shottmuller, la microleucocytoculture en gélose Veillon apparaît comme le procédé de choix, à utiliser aussi bien dans les septicémies anaérobies qui sont rares, qu'au cours des endocardites infectieuses dont le streptocoque, comme on sait, se développe plus facilement en gélose profonde qu'en aucun autre milieu.

Les colonies parfaitement visibles dans l'épaisseur

de la gélose, sont faciles à compter et faciles à prélever. Pour cela, une simple pipette armée d'un tube de caoutchouc et d'une sucette suffit. Il n'est point besoin comme dans la méthode du grand tube de Shottmuller de couper en tranches la gélose pour voir les colonies et les identifier. Après le prélèvement la culture peut, contrairement à ce qui se passe si l'on utilise la boîte de Boez, être conservée sans risque de souillure.

Les colonies anaérobies sont généralement petites et isolées. Une culture massive à la surface doit être considérée comme suspecte.

Au bout de quatre à cinq jours il se produit, dans la zone d'aérobiose du tube, un changement de coloration avec opacification du milieu et virage au jaune. Cet aspect peut en imposer pour la culture massive d'un parasite. En réalité il est dû à la transformation de l'hémoglobine en méthémoglobine : les examens directs et les ensemencements montrent que le milieu est resté stérile. Ce phénomène n'apporte aucune gêne à l'examen ultérieur du tube.

CHAPITRE II

—

OBSERVATIONS

Nous avons pratiqué plus de 300 microleucocytocultures, et chaque fois que nous l'avons pu, nous l'avons fait parallèlement à une hémoculture ordinaire.

Pour cela, nous prélevions, d'une même ponction, 20 cc. de sang dont 15 étaient destinés à l'hémoculture et 5 à la microleucocytoculture.

Soit par l'une, soit par l'autre méthode, soit par les deux simultanément, nous avons obtenu 89 fois un résultat positif.

Nous n'avons tenu compte que de ces 89 observations dont voici la liste :

Fièvre typhoïde	24
Fièvre paratyphoïde A	4
Fièvre paratyphoïde B	8
Colibacillémies	2
Endocardites à streptocoques	16
Erysipèle	4

Scarlatines	2
Thrombophlébite des sinus	1
Myosite à streptocoques	1
Fièvre puerpérale	1
Hépato-néphrite à streptocoques	1
Septicémie à staphylocoques	5
Pneumonies	4
Endocardite à pneumocoques	1
Péritonite à pneumocoques	1
Endocardite à tétragènes (2 fois)	1
Infection à pneumobacilles de Friedlander	1
Phlébite à entérocoques	1
Septicémie à micrococus crassus	1
Septicémie à méningocoques B	1
Infections à colibacilles putrides	1
Ictère grave à perfringens (3 fois)	1
Septicémie pesteuse	1
Endocardite à bacilles de Pfeiffer (3 fois)	1

Sur ces 89 observations la microleucocytoculture et l'hémoculture ont été pratiquées simultanément 54 fois.

Douze fois l'hémoculture a été négative alors que la microleucocytoculture était positive. En outre dans dix observations notre méthode nous a donné des résultats plus précoces que l'hémoculture.

Par contre, dans sept cas l'hémoculture a été positive alors que la microleucocytoculture est restée stérile.

Dans ce chapitre nous rapportons nos observations en les classant par maladie et suivant les résultats obtenus.

Dans le chapitre suivant, nous résumerons les avantages, nous essaierons d'expliquer les échecs et de fixer les possibilités de notre méthode.

I. — Fièvres typhoïdes, paratyphoïdes et colibacillémies

I. — Fièvres typhoïdes

I. — Microleucocytoculture seule :

Obs. 1. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Mme Debo, 38 ans. Fièvre typhoïde d'intensité moyenne typique, taches rosées, splénomégalie. Une hémoculture avait été positive deux jours auparavant.

Le 30 mai 1928 à 3 heures de l'après-midi T. 39°5. On pratique une microleucocytoculture en tube de bouillon.

Le 31 mai à 9 heures du matin culture abondante de bacilles d'Eberth.

Résultat positif en 19 heures.

Obs. 2. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Mme Na..., 35 ans. Fièvre typhoïde d'origine ostréaire. État général grave ; taches rosées, splénomégalie.

Le 10 juillet 1928 au 2e septennaire microleucocytoculture en bouillon.

Culture pure de bacilles d'Eberth en 48 heures.

Obs. 3. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Ch..., 26 ans. Fièvre typhoïde grave au 3e septennaire.

État typhoïde, langue sèche, grosse rate, diarrhée profuse, pouls 120.

Le 10 juillet 1928 : T. 39°3. Microleucocytoculture en bouillon.

Culture pure de bacilles d'Eberth en 38 heures.

Obs. 4. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Poro..., 32 ans. Typhoïde légère au 8e jour, taches rosées, grosse rate, ancien vacciné.

12 novembre 1928 : T. 39°, microleucocytoculture en bouillon.

Résultat positif en 24 heures.

Obs. 5. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Durand, 17 ans. Fièvre typhoïde normale sans complication. T. 39°5.

Le 2 mars 1929 : Microleucocytoculture en bouillon.

Culture de bacilles d'Eberth en 24 heures.

II. — Microleucocytoculture et hémoculture : *Mêmes résultats*

Obs. 6. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Ni... Typhoïde d'intensité moyenne au 15e jour. Taches rosées, grosse rate, diarrhée légère.

Le 10 octobre 1928 on pratique simultanément une hémoculture et une microleucocytoculture en bouillon.

Résultat positif en 29 heures par les deux procédés.

Obs. 7. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Dev..., fièvre typhoïde typique au 2e septennaire.

Le 20 mars 1929 : Hémoculture et microleucocytoculture en bouillon.

Par les deux procédés on obtient une culture de B. d'Eberth en 24 heures.

Obs. 8. — Service du Pr André Lemierre. Hôpital Bichat.

M. Ferd... Fièvre typhoïde grave compliquée de néphrite azotémique. Guérison.

5 mars 1930 : Hémoculture : Bacille d'Eberth en 48 heures.

6 mars 1930 : Microleucocytoculture en bouillon et en gélose Veillon.

Bouillon : Bacille mobile gram 0 le 8 mars.

Veillon : 3 colonies de bacilles d'Eberth le 8 mars

Obs. 9. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Met..., 19 ans. Fièvre typhoïde sévère au 2e septennaire, avec myocardite. T. 40. Mort au bout d'un mois par collapsus cardiaque.

Le 7 mars 1930 : On pratique en même temps microleucocytoculture en bouillon et hémoculture.

Résultat positif par les 2 procédés en 36 heures.

Obs. 10. — Service du Pr A. Lemierre. Hôpital Bichat.

M. Mart... Fièvre typhoïde typique au 8e jour. Taches rosées, grosse rate. T. 39°5.

Le 17 mars 1930 : L'hémoculture et la microleucocytoculture en bouillon pratiquées simultanément donnent *en 48 heures une culture de bacilles d'Eberth.*

Une microleucocytoculture sur gélose inclinée reste négative.

Obs. 11 et 12. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Kermoi... Fièvre typhoïde typique sans complication. Evolution prolongée 2 mois.

17 mai 1930 : Microleucocytoculture en bouillon.

En 24 heures : Bacille d'Eberth.

19 mai 1930 : Hémoculture et microleucocytoculture en bouillon sont pratiquées en même temps.

Par les deux procédés en 24 heures : bacille d'Eberth.

Obs. 13. — Service du Pr Lemierre. Hôpital Bichat.

M. Marc... Malade depuis 10 jours. Température oscillant autour de 38°5 chez un ancien bacillaire vacciné. Pas de grosse rate, pas de taches rosées. Cependant impression clinique de dothiénentérie. Urée sanguine 0,77. Guérison.

Le 7 juillet 1930 : On pratique simultanément hémoculture et microleucocytoculture. *Toutes deux sont positives le 9 juillet 1930.*

A noter que dans la microleucocytoculture les bacilles se sont developpés agglutinés dans un petit coagulum fibrineux.

III. — Microleucocytoculture et hémoculture : *Meilleurs résultats de la microleucocytoculture*

Obs. 14. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Ro..., 35 ans. Typhoïde d'intensité moyenne au 12e jour.

Le 19 septembre 1928 à midi : T. 39°5. On pratique en même temps microleucocytoculture et hémoculture.

Le 20 septembre : Microleucocytoculture positive : Eberth.

L'hémoculture est négative : repiquage négatif.

Le 22 septembre : L'hémoculture est positive : Eberth.

Avance de deux jours de la microleucocytoculture.

Obs. 15. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Mme Mich... Fièvre typhoïde légère chez une malade por-

teuse d'une aortite syphilitique. Défervescence rapide au 10e jour.

Le 9 octobre 1928 : On pratique en même temps une hémoculture et des microleucocytocultures en bouillon, sur gélose inclinée, gélose au rouge neutre, gélose au sous-acétate de plomb.

La microleucocytoculture en bouillon est positive le 15 octobre.

Celle sur gélose inclinée est positive le 16 octobre.

Les autres milieux ne sont pas modifiés.

L'hémoculture reste constamment négative.

Obs. 16. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Mme Sor.., 28 ans Fièvre typhoïde d'intensité moyenne sans complication.

Le 20 octobre 1928 au 8e jour on pratique simultanément une hémoculture et des microleucocytocultures en bouillon, sur gélose inclinée, sur gélose glucosée au rouge neutre, sur gélose au sous-acétate de plomb.

La microleucocytoculture en bouillon est positive le 22 octobre.

La microleucocytoculture sur gélose inclinée est positive le 23 octobre.

L'hémoculture est positive le 23 octobre.

Les autres milieux ne sont pas modifiés.

Avance d'un jour de la microleucocytoculture en bouillon sur l'hémoculture.

Obs. 17. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Mme Wun... Typhoïde d'intensité moyenne au 12e jour.

Le 20 mai 1929 on pratique simultanément hémoculture et microleucocytoculture.

Celle-ci est positive le 22 mai.

L'hémoculture reste négative.

Obs. 18. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Ips... Typhoïde normale sans complication au 15e jour.
Le 6 octobre 1929 : T. 39° hémoculture et microleucocytoculture.
Microleucocytoculture positive en 24 heures.
Hémoculture positive en 48 heures.
Retard de 24 heures de l'hémoculture ordinaire.

Obs. 19. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Pourte.., fièvre typhoïde typique sans complication.
Le 30 mai 1930 : Microleucocytoculture positive en 24 h.
Hémoculture positive en 48 heures.
Retard de 24 heures de l'hémoculture ordinaire.

IV. — Microleucocytoculture et hémoculture :
Résultats meilleurs de l'hémoculture

Obs. 20. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Grveill... Fièvre typhoïde sans complication au stade amphibole.
Le 11 octobre 1929 : T. 39°. *Microleucocytoculture négative*
Hémoculture positive en 24 heures

Obs. 21. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Gabil... Fièvre typhoïde typique sans complications.
Le 29 novembre 1929 : *Microleucocytoculture négative.*
Hémoculture positive en 24 heures.

Obs. 22. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Moucha... Fièvre typhoïde sans complications.

Le 30 décembre 1929 : *Microleucocytoculture* : *reste négative.*
Hémoculture : En 4 jours bacille d'Eberth.

Obs. 23. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Perise... Fièvre typhoïde : taches rosées, grosse rate ; diarrhée. Etat général bas.

6 février 1930 : *Microleucocytoculture :* reste négative.
Hémoculture : en 4 jours bacille d'Eberth.

Obs. 24. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Sumaïk... Fièvre typhoïde grave au 13e jour. Température en plateau aux environs de 40. Diarrhée profuse. Guérison en un mois et demi.

14 mars 1930 : *Microleucocytoculture :* reste négative.
Hémoculture : en 48 heures bacille d'Eberth.

2° Fièvres paratyphoïdes A.

I. — Microleucocytoculture seule

Obs. 25. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Mme Buc... Etat typhique depuis 5 jours, grosse rate, diarrhée.

12 novembre 1928 à midi T. 39°. Microleucocytoculture en bouillon.

13 novembre 1928 à 9 h. du matin : *culture de Para A.*
Séro diagnostic positif au 1/300 pour le Para A.

II. — Microleucocytoculture et hémoculture :
Mêmes résultats

Obs. 26. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Mme Landr..., 50 ans. Pyrexie avec métrorrhagies, grosse rate, taches rosées. Présence de bacille perfringens dans les selles très diarrhéiques.

Le 3 février 1930 : T. 40. Hémoculture et microleucocytoculture en bouillon.

Par les deux procédés en 24 heures on isole un Para A.

III. — Microleucocytoculture et hémoculture :
Meilleurs résultats de la microleucocytoculture

Obs. 27. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Wil..., 49 ans. Pyrexie à allure de dothiénenthérie typique : taches rosées, grosse rate, T. 39°.

22 janvier 1930 : 15e jour de la maladie :

Microleucocytoculture en bouillon : Para A en 24 heures.

L'hémoculture pratiquée en même temps reste négative.

IV. — Microleucocytoculture et hémoculture :
Meilleurs résultats de l'hémoculture

Obs. 28. — Service du Pr agrégé Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Sath..., pyrexie à type typhoïde. Grosse rate, taches rosées, diarrhée ; T. 38°5.

Le 23 septembre 1929 : *Hémoculture positive en 48 heures.* Para A.

Microleucocytoculture : négative.

3° **Fièvres paratyphoïdes B.**

I. — Microleucocytoculture seule

Obs. 29. — Service de M. le Pr agrégé Harvier. Hôpital Beaujon.

Mme Angl... malade depuis 3 jours, début brusque par angine rouge. Température à 40°. Epistaxis. Aucun signe de localisation, pas de diarrhée, pas de taches rosées.

Le 24 novembre 1929 : Microleucocytoculture en bouillon. *On isole un bacille mobile gram négatif.*

C'est un para B qui noircit la gélose au sous-acétate de plomb et fait éclater la gélose au rouge neutre. Il est en outre agglutiné au 400e par le sérum spécifique.

Le 27 novembre apparaissent des taches rosées qui confirment le diagnostic.

Guérison rapide 8 jours après.

Obs. 30. — Service de M. Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Soul... Lucette, 23 ans. Pyrexie avec taches rosées, grosse rate, T. à 39°. Allure de typhoïde. Guérison rapide.

Le 29 avril 1930 : 15e jour de la maladie : *Microleucocytoculture* en bouillon : *Positive en 48 heures : Para B.*

II. — Hémoculture et microleucocytoculture : *Mêmes résultats*

Obs. 31. — Service de M. Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Mme B..., 55 ans. Entre à la maison de santé avec un syndrome de cholécystite aiguë : Vésicule palpable et douloureuse, ictère, fièvre. Au bout de 3 à 4 jours disparition des phénomènes vésiculaires, persistance d'un état fébrile continu. Mort par collapsus cardiaque.

Le 17 décembre 1928, au 15e jour : T. 38°5. On pratique simultanément une hémoculture et une microleucocytoculture en bouillon.

Para B par les deux procédés en 24 heures.

Obs. 32. — Service de M. Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Mme Hagr..., septicémie à forme frissonnante. Température hectique, grosse rate sans autres signes.

Le 6 février 1930 : T. 39°7. On pratique simultanément une hémoculture et une microleucocytoculture en bouillon.

Para B par les deux procédés en 48 heures.

Obs. 33. — Service de M. le Pr André Lemierre. Hôpital Bichat.

M. Bill..., 35 ans. Température ascendante depuis 8 jours, chez un ancien bacillaire vacciné 8 fois contre la typhoïde mais non vacciné contre les paratyphoïdes.

Le 7 juillet 1930 : Hémoculture et microleucocytoculture en bouillon.

Culture abondante de Para B 24 heures après, par les deux méthodes.

Obs. 34. — Service de M. Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Mme Heri... Tableau de typhoïde à évolution prolongée, chez une vieille femme. Guérison.

Le 13 juillet 1930 : Hémoculture et microleucocytoculture en bouillon.

Toutes deux sont positives en 24 heures : Para B.

III. — Hémoculture et microleucocytoculture : *Meilleurs résultats de la microleucocytoculture*

Obs. 35. — Service de M. Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Vi..., 25 ans. Etat septicémique, fièvre hectique, état

typhique, grosse rate, frissons bi-quotidiens. Diagnostic clinique : granulie ou fièvre typhoïde très anormale.

Le 25 octobre 1928 : Microleucocytoculture et hémoculture en bouillon sont toutes deux négatives.

Le 26 octobre 1928 à 6 heures du soir après un grand frisson, température à 40. On pratique une nouvelle hémoculture et une nouvelle microleucocytoculture en bouillon.

L'hémoculture reste négative.

La microleucocytoculture est positive le 28, à 9 heures du matin : Para B.

Le malade guérit en 3 semaines après avoir inspiré de vives inquiétudes. Seule notre méthode a permis de porter le diagnostic exact : Fièvre paratyphoïde B à forme frissonnante.

IV. — Hémoculture et Microleucocytoculture : *Meilleurs résultats de l'hémoculture*

Obs. 36. — Service de M. Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Lac..., aspect de typhoïde normale. Guérison.

Le 23 juin 1930 : Hémoculture et microleucocytoculture en bouillon.

Seule l'hémoculture est positive en 24 heures.

4° Colibacillémies

I. — Microleucocytoculture et hémoculture : *Mêmes résultats*

Obs. 37. — Service de M. Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Barthéi... Malade atteint de pyonéphrose avec gros rein gauche. Température à oscillations. Guérison spontanée en 15 jours.

Le 26 décembre 1929 : Microleucocytoculture en bouillon et hémoculture.

Toutes deux permettent en 36 heures d'isoler un colibacille.

II. — Microleucocytoculture et Hémoculture : *Avance d'un jour de la microleucocytoculture*

Obs. 38. — Service de M. le Pr agrégé Harvier. Hôpital Beaujon.

Mme Pich... Début brusque 4 jours avant l'entrée à l'hôpital. Douleurs rénales. T. à 40°. Urines purulentes contenant des colibacilles. Masse lombaire droite.

Le 3 octobre 1929 : hémoculture et microleucocytoculture en bouillon.

La microleucocytoculture est positive le 5.

L'hémoculture est positive le 6.

II. — Infections à streptocoques

1° Endocardites malignes

I. — Microleucocytoculture seule

Obs. 39-40-41-42. — Service du Dr Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Kérami.., 40 ans. Endocardite à forme lente greffée sur une lésion mitrale ancienne. Température oscillante, splénomégalie modérée. Anémie légère.

Le 10 octobre 1928 : T. 38°5. Microleucocytoculture en bouillon et en gélose profonde.

Le 13 octobre : culture pure de streptocoques dans le tube de bouillon ; trois colonies arrondies de streptocoques dans la profondeur de la gélose Veillon. Streptocoque ni hémolytique ni viridans.

Le 15 octobre 1928 : T. 38°7. Microleucocytoculture en gélose profonde pratiquée en prélevant avec une *anse de platine* une parcelle du tapis leucocytaire.

En trois jours développement d une petite colonie de streptocoques.

Le 20 octobre 1928 : T. 38°5, à 6 heures de l'après-midi, microleucocytoculture en gélose profonde. On ajoute une petite quantité de globules rouges pour rechercher l'action hémolytique du germe.

Le 21 octobre 1929 à 9 h. du matin, *15 heures après l'ensemencement* 5 à 6 colonies de streptocoques parfaitement visibles L'hémoglobine par la suite ne sera pas modifiée.

Le 21 octobre 1928 à 6 heures du soir : microleucocytoculture en gélose profonde.

Le 22 octobre à 9 heures du matin : nombreuses petites colonies de streptocoques dans la zone d'anaérobiose.

Obs. 43. — Malade de ville (M. Noël Fiessinger).

Mme Ney..., Endocardite infectieuse greffée sur une lésion mitrale ancienne. Température hectique, grosse rate, anémie considérable.

Le 3 novembre 1928, à 6 heures du soir, T. 38°5. Microleucocytoculture en bouillon et en gélose de Veillon.

Le 5 novembre à 9 heures du matin : petite colonie dans le tube de gélose Veillon.

Le 6 novembre : culture pure de streptocoques dans le tube de bouillon.

Streptocoque à chaînettes courtes non hémolytique.

Plusieurs hémocultures avaient été pratiquées auparavant. Elles avaient toutes été négatives.

II. — Microleucocytoculture et hémoculture :
Mêmes résultats

Obs. 44 et **45**. — Service de M. Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Ques..., 40 ans. Endocardite maligne à évolution rapide. Petit souffle mésosystolique inconstant de la région apexienne. Hémiplégie gauche survenue au cours de l'évolution.

Le 5 avril 1929 : Hémoculture et microleucocytoculture en bouillon et en gélose Veillon. Toutes trois sont positives en 48 heures : *Streptocoque* peu hémolytique ; coagule le lait.

Le 27 avril 1929 : Microleucocytoculture en Veillon. En 24 heures développement d'une petite colonie de streptocoques dans la zone d'anaérobiose.

Obs. 46 et **47**. — Service de M. Noël Flessinger. Maison Dubois.

M. Cam..., 59 ans. Endocardite maligne greffée sur une insuffisance mitrale ancienne. Petites embolies bulbaires avec mouvements choréiformes. Paralysie labio-glosso-laryngée.

Le 3 juillet 1930 : Microleucocytoculture et hémoculture en bouillon et en gélose de Veillon. Par les trois procédés on obtient une culture pure de streptocoques hémolytiques en 24 heures.

Le 15 juillet : Microleucocytoculture et hémoculture sont également positives en 24 heures.

III. — Microleucocytoculture et hémoculture :
Meilleurs résultats de la microleucocytoculture

Obs. 48. — Kérami : Même malade que dans les obs. 39-40-41-42.

Le 23 juillet 1928 : T. 39°. Hémoculture et microleucocytoculture en bouillon et en gélose de Veillon.

Microleucocytoculture en Veillon positive le 24 juillet.

Microleucocytoculture en bouillon et hémoculture positive le 25.

Avance d'un jour de la microleucocytoculture en gélose de Veillon.

Obs. 49 et 50. — Service de M Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Sha... Diagnostic clinique : Endocardite infectieuse greffée. Etat fébrile à grandes oscillations durant depuis 3 mois chez un malade porteur d'une insuffisance mitrale ancienne. Variations notables du timbre du souffle systolique d'abord doux puis rude et piaulant. Pas de splénomégalie.

Le 18 novembre 1928 à 8 heures du soir : T. 39°. Microleucocytoculture en gélose de Veillon, en bouillon et hémoculture.

La microleucocytoculture en gélose profonde est positive le 20. Les autres le sont le 21 : Streptocoque non hémolytique.

Avance d'un jour de la microleucocytoculture en gélose de Veillon.

Le 19 décembre 1928 : T. 37°9. On pratique en même temps microleucocytoculture en gélose de Veillon en bouillon, et hémoculture.

La microleucocytoculture en Veillon reste négative.

La microleucocytoculture en bouillon est positive le 22 décembre.

L'hémoculture est positive le 27 décembre.

Retard de cinq jours de l'hémoculture ordinaire sur la microleucocytoculture en bouillon.

Résultat négatif de la microleucocytoculture en gélose de Veillon.

Obs. 51. — Malade de ville (MM les Drs Mathieu et Harvier).

Huar..., 45 ans. Insuffisance aortique remontant à l'enfance. Depuis deux mois, fièvre, douleurs rénales, hématurie, grosse rate. Ultérieurement le malade fera une hémiplégie droite.

Le 8 octobre : On pratique hémoculture et microleucocytoculture en gélose de Veillon.

La microleucocytoculture est positive le 10 octobre (*streptocoque viridans*).

L'hémoculture le 11 octobre.

Retard d'un jour de l'hémoculture sur la microleucocytoculture en gélose de Veillon.

Obs. 52. — Service du Pr Lemierre. Hôpital Bichat.

Mme Char... Diagnostic : endocardite greffée sur une lésion mitrale : température oscillante, grosse rate, anémie.

Successivement chez cette malade des hémocultures aérobies et anaérobies (grand tube de gélose de Veillon suivant le procédé de Shottmuller) avaient permis le 30 novembre, le 7 décembre 1929 et le 2 janvier 1930 d'isoler un microbe que l'on avait pris pour un staphylocoque. On avait cependant remarqué que ce staphylocoque était presque strictement anaérobie. Les cultures sur gélose inclinée très pauvres, fines et rares, rappelaient celles du streptocoque.

Le 16 janvier 1930, on pratique :

— une microleucocytoculture en gélose de Veillon : *positive le 17 janvier* (petites colonies visibles à la loupe ; très nettes le 18) ;

— une microleucocytoculture en bouillon *positive le 19 janvier* ;

— une hémoculture positive le 24 janvier.

Le microbe isolé fut étudié et repiqué par divers milieux : il s'agissait d'un *streptococcus conglomeratus* à chaînettes très courtes.

Retard de 5 jours de l'hémoculture ordinaire sur la microleucocytoculture en bouillon ; de 8 jours sur la microleucocytoculture en gélose de Veillon.

Obs. 53. — Service de M. Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Mme Lav... Endocardite d'Osler greffée sur une lésion mitrale ancienne. Anémie, grosse rate.

Le 29 mars 1930 : Microleucocytoculture en bouillon et en gélose de Veillon et hémoculture.

Les microleucocytocultures sont positives le 31 mars : Streptocoque.

L'HÉMOCULTURE RESTE NÉGATIVE.

Obs. 54. — Service de M. Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Her... Endocardite maligne greffée sur une lésion mitrale ancienne. Embolies superficielles localisées sur le nez.

Le 25 juillet 1930 : Microleucocytoculture en bouillon. Streptocoque non hémolytique développé en 48 heures.

L'hémoculture est négative.

2° Erysipèles :

I. — MICROLEUCOCYTOCULTURE SEULE :

Obs. 55. — Service de M. Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. M... Erysipèle récidivant : 1re atteinte au début de mars 1930 ; 2e poussée le 18 mars 1930. Récidive le 10 mai. Guérison.

Le 7 mars 1928 : Microleucocytocultures en bouillon et gélose de Veillon : négatives.

Le 20 mars 1928 : Microleucocytocultures en bouillon et gélose de Veillon, positives en 24 heures : streptocoque.

Le 11 mai : Microleucocytocultures négatives.

Obs. 56. — Service de M. le Pr Lemierre. Hôpital Bichat.

M. Oliv.. , 35 ans. Malade hospitalisée dans le service depuis un mois pour hémiplégie droite avec aphasie. Erysipèle de la face contracté dans le service : Température en plateau aux environs de 40°. Pouls 96 Albuminurie. Urobilinurie. Urée sanguine : 0,78. Mort le 26 février 1930.

Autopsie : pas d'endocardite. Rétrécissement mitral ancien.

Le 28 février 1930 : Hémoculture et microleucocytoculture anaérobie et aérobie sont négatives.

Le 24 février 1930 : Microleucocytoculture en bouillon : négative.

Microleucocytoculture en gélose de Veillon : positive.

En 24 heures développement d'une colonie de streptocoques à gros grains, à longues chaînettes peu hémolytiques.

Obs 57. — Service de M. Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. A.. , 48 ans. Erysipèle volumineux du bras droit ayant au bout de 3 semaines d'évolution pris l'aspect d'un énorme phlegmon. Amputation le 20 janvier 1929.

Ce jour-là : Microleucocytoculture en bouillon et en gélose de Veillon. En 29 heures par les deux procédés : streptocoque.

Le sujet meurt le lendemain.

II. — Microleucocytoculture et hémoculture :
Résultats meilleurs de la microleucocytoculture

Obs. 58. — Service de M. Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Mar. Erysipèle de la face d'intensité moyenne chez un homme de 36 ans. Etat général mauvais. Cependant guéri-

son au 8e jour, le 20 novembre 1928 par crise polyurique et thermique.

Le 19 novembre 1928 : Microleucocytoculture et hémoculture en bouillon au 6e jour de la maladie. T. 39°.

Microleucocytoculture : Culture de streptocoques le 21 novembre.

L'hémoculture reste négative.

3° **Scarlatines.**

I. — Microleucocytoculture seule :

Obs. 59. — Service de M. Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Mme X... Scarlatine bénigne au 2e jour de l'éruption. Guérison rapide sans complications.

Le 25 janvier 1929 : Microleucocytoculture en bouillon.

Le 29 janvier : Culture pure de streptocoques non hémolytiques.

Obs. 60. — Service du Dr Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Arch... : Scarlatine bénigne au 4e jour. Eruption débutante.

Le 4 février 1929 : Microleucocytoculture en bouillon.

Le 5 février 1929 : Culture pure de *streptocoques* non hémolytiques coagulant le lait, non pathogènes pour la souris.

Le malade fait ultérieurement une otite à streptocoques.

4° **Fièvre puerpérale :**

I. — Hémoculture et Microleucocytoculture : *Mêmes résultats*

Obs. 61. — Service du Dr Sauvé. Maison Dubois.

Mme Pess... : Avortement criminel. Depuis 3 jours température à 40. Hystérectomie le 29 novembre. Mort le 31.

Le 30 novembre 1928 à 6 heures du soir on pratique en même temps une hémoculture, une microleucocytoculture en bouillon, en gélose de Veillon.

Le 31 novembre à 9 heures du matin, par les trois procédés : streptocoque hémolytique. Abondance extraordinaire des colonies de streptocoques dans la profondeur de la gélose de Veillon.

5° Thrombo-phlébite des sinus :

Obs. 63. — Service du Dr Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Na... : Entre à la maison Dubois dans un état très grave. Histoire d'otite chronique ancienne. Depuis 4 à 5 jours température oscillante, frissons, délire. Diagnostic clinique : thrombophlébite des sinus.

Le 20 mars 1929, une heure avant la mort microleucocytoculture en bouillon et en gélose de Veillon. Par les deux procédés on isole un streptocoque. En outre il pousse dans la profondeur de la gélose Veillon un germe anaérobie qui n'a pu être identifié.

6° Hépato-néphrite mortelle à streptocoques :

Microleucocytoculture et hémoculture : *Mêmes résultats*

Obs. 64. — Service du Pr Lemierre. Hôpital Bichat.

Coll... : Tableau de spirochétose ictéro-hémorragique grave. Début par malaise général, puis au bout de deux jours apparition d'un ictère safran typique. Température en plateau à 40. Dans une 2e phase chute de la température à 37. En même temps oligurie, puis anurie. — Azotémie 5 gr. Mort dans l'hypothermie.

Autopsie : Le foie ne présente pas les lésions habituelles de

la spirochétose ictéro hémorragique, mais celles de la dégénérescence graisseuse massive.

L'inoculation du sang à quatre cobayes le 15 et le 17 juillet reste négative. *Cependant le séro-diagnostic pour la spirochétose ictéro-hémorragique* est *positif* le 17 juillet.

Le 14 juillet 1930, on pratique en même temps microleucocytoculture en bouillon en gélose de Veillon et hémoculture.

Par les 3 procédés en 48 heures : *Streptocoque viridans.*

III. — Infections à staphylocoques.

I. — Hémoculture et microleucocytoculture : *Mêmes résultats*

Obs. 65. — Service de M. le Pr Lemierre. Hôpital Bichat.

M. Ha... : Malade atteint de phlegmon périnéphrétique opéré 10 jours auparavant. Depuis l'opération, température s'élevant progressivement aux environs de 40°. Actuellement frissons et température hectique.

Le 12 janvier 1930 : Microleucocytoculture en bouillon et en gélose Veillon ; hémoculture.

Par les trois procédés on obtient du staphylocoque blanc en 24 heures.

A la suite de ces examens, néphrectomie : abcès multiples du rein. Les symptômes septicémiques continuent après la néphrectomie. Mort le 16 janvier 1930.

II. — Hémoculture et microleucocytoculture : *Meilleurs résultats de la microleucocytoculture.*

Obs. 66. — Service de M. Harvier : Hôpital Beaujon.

M. Migu... : Symptômes septicémiques avec abcès multi-

ples escharotiques de la main gauche. Arthrite de l'épaule droite. Décès par la suite. Pas d'autopsie.

Le 11 octobre 1929 : Hémoculture et microleucocytoculture en bouillon et en Veillon.

Microleucocytoculture en Veillon positive le 12 octobre.

Hémoculture et microleucocytoculture en bouillon positive le 15 octobre : *staphylocoque blanc.*

Retard de 3 jours de l'hémoculture sur la microleucocytoculture en Veillon.

Obs. 67 et **68**. — Service de M. Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Catt... : 28 ans. Septicémie. Gros foie, très grosse rate. Pneumonie gauche. Pleurésie purulente à staphylocoques. Abcès divers à staphylocoques. Mort le 1er juin.

Le 6 mai 1930 : Microleucocytoculture : en 3 jours développement dans la gélose de Veillon de *staphylocoque doré.*

Le 7 mai 1930 : Hémoculture et microleucocytoculture en bouillon.

La microleucocytoculture est positive en 3 jours : *Staphylocoque doré.*

L'hémoculture reste négative.

III. — Microleucocytoculture seule :

Obs. 69. — Service de M. Noël Fiesssinger. Maison Dubois.

M. Hor... : 45 ans. Septicémie à staphylocoques d'allure subaigüe. Abcès multiples, arthrite suppurée du genou.

Le 16 juillet 1930 : Microleucocytoculture en gélose de Veillon.

48 heures après : très nombreuses colonies de *staphylocoques dorés.*

IV. — Infections à pneumocoques

1° Pneumonies

I. — Microleucocytoculture seule :

Obs. n° 70. — Service du Dr Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Mad. Mapp... Pneumonie au 5e jour. Guérison par crise urinaire et thermique le 7e jour.

Le 4 mars 1929 : Microleucocytoculture au bouillon peptoné.

— *Positive en 24 heures : culture pure de pneumocoques.*

Obs. n° 71. — Service du Dr Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Mad. Shill : Pneumonie au 10e jour compliquée de méningite à pneumocoques. T. 40e Mort le 12e jour.

Le 4 mars 1929 ; Microleucocytoculture en bouillon.

— *Positive en 24 heures : culture pure de pneumocoques.*

II. — Hémoculture et microleucocytoculture :
Meilleurs résultats de la microleucocytoculture.

Obs. n° 72. — Service du Dr Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Mme Chav... Pneumonie grave du lobe inférieur droit au 9e jour chez une femme de 55 ans. Ictère par hépatite. (Ultérieurement évolution un peu prolongée (10 jours). Défervescence en lysis. Pleurésie purulente enkystée ou petit abcès cortical du poumon évacué par vomique. Guérison.

Le 18 novembre 1928 : Hémoculture et microleucocytoculture en bouillon. — Celle-ci est *positive au bout de 15 heures : Pneumocoques.*

L'hémoculture reste négative.

A noter que ces examens ont été pratiqués la veille du début de la défervescence.

Obs. 73. — Service du Dr Noël Fiessinger. Maison Dubois.

Cheval... 28 ans. Pneumonie de la base droite au 5e jour. Guérison au 9e jour.

— *Microleucocytoculture en bouillon* : *Pneumocoques.*

— *Hémoculture* : *négative.*

2° Endocardite à pneumocoques

I. — MICROLEUCOCYTOCULTURE SEULE :

Obs. n° 74. — Service de M. Noël Fiessinger. Maison Dubois.

M. Ma... Endocardite subaiguë greffée sur une lésion mitrale ancienne. Le germe en cause avait été isolé précédemment grâce à plusieurs hémocultures.

Le 18 juillet 1928 : T. 38°8 à 8 h. de l'après midi : Microleucocytoculture en bouillon. Le lendemain à 9 h. du matin culture pure de pneumocoques.

L'inoculation à la souris de 1 cm³ de cette culture provoque une septicémie mortelle en 90 heures.

3° Péritonite à pneumocoques

III. — HÉMOCULTURE ET MICROLEUCOCYTOCULTURE :
Mêmes résultats.

Obs. 74. — Service de M. Noël Fiessinger, Maison Dubois.

Tav... Septicémie à pneumocoques avec péritonite, ictère grave, gros foie, grosse rate, légère raideur de la nuque.

Entrée le 18 octobre, décédée le 1er novembre 1929.

Le 25 octobre 1929 : *Hémoculture et microleucocytoculture* en bouillon.

Par les deux procédés : pneumocoque en 24 heures.

V. — Observations diverses

1° Endocardite à tétragènes

Obs. 76 et 77. — Service de M. Le Dr Harvier. Hôpital Beaujon.

Guillem... Malade depuis 6 mois. Etat fébrile continu avec ondulations thermiques rappelant la fièvre de Malte chez un sujet atteint de maladie de Hogdson.

Manifestations cutanées consistant en nodosités rouges douloureuses apparaissant au poignet brusquement et disparaissant spontanément au bout de six à huit jours. Ce phénomène qui éveille l'idée d'un processus embolique se reproduit assez fréquemment. Il a été observé deux fois pendant le séjour du malade à l'hôpital.

Diagnostic : Endocardite à forme lente.

Le 19 octobre 1929 : Microleucocytoculture en bouillon.

Le 20 octobre ; cocci isolés et en tétrades donnant par repiquage sur gélose de petites colonies fines rappelant celles du streptocoque.

Repiquage sur gélatine *: aspect en clou de la culture.*

Coccus en tétrade, gram positif, strictement aérobie, présentant les principaux caractères du *tétragène.*

Le 25 octobre 1929 : Hémoculture et microleucocytoculture négatives.

Le 21 novembre 1929 : Hémoculture négative.

Le 23 novembre 1929 : *Microleucocytoculture en bouillon : Même microbe que précédemment.*

Finalement, le malade sort sur sa demande le 1er décembre 1929.

2° **Pneumopathie à pneumobacille de Friedlander.**

Obs. 78. — Service du Dr Noël Fiessinger. — Maison Dubois.

Mme Ra..., 55 ans. Congestion pulmonaire grave ayant évolué en cinq jours vers la mort.

A l'*autopsie* : On trouve un bloc d'hépatisation grise chez une malade atteinte de cancer du poumon ayant passé inaperçu.

Le 22 juin 1928 : Microleucocytoculture et hémoculture. — Par les deux procédés on isole en 48 h. du *pneumobacille de Friedlander.*

3° **Phlébite à entérocoque**

Obs. 79. — Service du Pr Lemierre. Hôpital Bichat.

Mr. Dup... Phlébite avec température élevée, en plateau aux environs de 39°, chez un malade atteint d'aortite ancienne. Infarctus pulmonaire de la base gauche. Diminution considérable de l'intensité du souffle pendant la maladie. Ultérieurement, guérison au bout de deux mois d'évolution.

Le 3 juillet 1930 : Microleucocytoculture en bouillon, en gélose de Veillon. Hémoculture aérobie et anaérobie (grand tube de Shottmuller).

La microleucocytoculture en gélose profonde est positive le 4 juillet.

La microleucocytoculture en bouillon est positive le 5 juillet.

L'hémoculture anaérobie est examinée le 7 juillet ; elle est positive.

L'hémoculture ordinaire reste négative.

Le germe isolé présente tous les caractères de *l'entérocoque*

4° Septicémie à micrococcus Crassus.

Obs. 80. — Service de M. le Dr Harvier. — Hôpital Beaujon.

Mme Bac... Jeune femme de 27 ans, entre dans le service pour des *métrorrhagies* abondantes ayant d'abord fait penser à tort, à une fausse couche. *Purpura* généralisé, sous forme de larges ecchymoses. *Etat général mauvais.* — Température en plateau à 40°. Vers la fin, apparition de quelques *signes méningés*. Evolution rapide vers la mort. Durée totale de la maladie : cinq jours.

Le 19 novembre 1929 on pratique en même temps une hémoculture et une microleucocytoculture en bouillon.

Par les deux procédés en 24 heures culture abondante de petits éléments arrondis, en amas, mal colorés par les colorants habituels, à gram inégal, plus gros que le méningocoque.

Sur les milieux solides : gélose ascite, gélose à l'extrait globulaire et les géloses sucrées, ce germe se développe sous forme de petites colonies très fines, bleutées.

Il fait fermenter le lactose, le saccharose, le glucose, la mannite, le lévulose.

Ce sont là les caractères du micrococcus Crassus.

L'ensemencement du liquide céphalorachidien donne le même microbe que les ensemencements du sang. Le liquide céphalorachidien est d'ailleurs peu altéré. Il contient par centimètre cube 5 éléments cellulaires et 0 gr. 22 d'albumine.

Autopsie. — Le cerveau est le siège de petites suffusions hémorragiques. Il existe un petit abcès à la base du poumon gauche, une zone de splénisation à la base du poumon droit. Foie de type infectieux. Rate petite. Utérus normal,

5° Septicémie à méningocoques B.

Obs. 81. — Malade de ville (M. Harvier).

Palink..., 35 ans. Etat fébrile à oscillations chez un ancien rhumatisant porteur d'un souffle mitral. Début par une douleur abdominale intense, puis apparition de délire et de signes méningés : raideur de la nuque, signe de Kernig. Mauvais état général. Malade perdu de vue depuis le prélèvement du sang.

Le 1er décembre 1929 : Température à 38°5. On pratique une microleucocytoculture en bouillon.

En 24 heures culture d'un *diplocoque à gram négatif.*

En gélose ascite : Très petites colonies très fines, très pauvres.

Fait fermenter le maltose et le glucose, ne fait fermenter ni manite, ni lévulose, ni saccharose.

Ce germe est agglutiné au 1/100e par le sérum antiméningococcique B. Il n'est pas agglutiné par les sérums anti A et anti C.

Méningocoque B.

6° Infection à colibacilles putrides.

Obs. 82.— Service de M. le Pr Lemierre, Hôpital Beaujon

Mart... Malade se présentant comme un pneumotyphus. Etat général grave. Signes pulmonaires diffus. Température à 40°. Diarrhée. Splénomégalie. Azotémie. Signes méningés frustes. Guérison en 10 jours par crise urinaire et thermique.

Le 1er juillet 1930 : On isole en 24 heures par hémoculture et microleucocytoculture un bacille mobile gram négatif présentant les caractères suivants, qui permettent de le ranger dans la classe des colibacilles putrides (germes à caractères intermédiaires entre ceux du protéus et ceux du colibacille).

— culture en bouillon : trouble avec ondes moirées (*odeur spéciale de melon pourri*).

— culture sur gélose inclinée : abondante, semblable à celle du colibacille ;

— eau peptonée : formation d'indol ;

— gélose glucosée au rouge neutre : virage rapide et total ;

— gélose au sous-acétate de plomb : noircissement et éclatement ;

— gélose lactosée tournesolée : décoloration ;

— lait tournesolé : décoloration.

Chez ce même malade plusieurs séro-diagnostics pratiqués avec des souches de bacille d'Eberth, de Para A, de Para B, ont été négatifs.

De même pas d'agglutination du germe isolé par le sérum du malade.

7° Ictère grave à bacilles perfringens.

Obs. 83-84-85. — Service de M. le Dr Harvier, Hôpital Beaujon.

Mme Bou..., 35 ans. Entre à l'hôpital pour une métrorhagie abondante mise sur le compte d'une fausse-couche et ayant nécessité un curettage.

Début par fatigue intense, diarrhée profuse, puis, au bout de deux jours, ictère. La mauvaise volonté de la malade ne permet pas de pousser plus loin l'interrogatoire.

Examen le 1er octobre 1929 : Teinte uniformément jaunâtre des téguments. Cependant il s'agit plus de subictère que d'ictère vrai ; aspect grisâtre plombé, teint manifestement anémique ; yeux cernés, facies anxieux, asthénie considérable.

Température à 37°, mais pouls petit, irrégulier, filant. Les urines peu abondantes, rouge porto, troubles, contiennent de l'albumine et des pigments biliaires.

Abdomen souple non ballonné. Foie de volume normal. Rate non percutable.

Le toucher vaginal montre un col mou et entr'ouvert ; un utérus volumineux dont le fond est à 2 cm. au-dessus de la symphyse. Le doigt ramène quelques traces de pus très fétide.

Syndrome hémorragique : en plus des métrorragies on note des épistaxis et des taches purpuriques autour des orifices des piqûres pratiquées dans le service.

Le 3 octobre 1929 : Nouvelle métrorrhagie très abondante. L'anémie s'installe. La température se maintient au-dessous de 36°.

Le 5 octobre 1929 : Mort dans l'hypothermie,

Parmi toutes les recherches pratiquées retenons simplement ici :

— *le dosage de l'urée du sang* : 5 gr. par litre le 4 octobre.

— *la numération globulaire* et la *formule leucocytaire* : 4 octobre.

Hémoglobine.....	10 % (Taliqwist)
Globules blancs.....	26.700
Globules rouges	4.500.000
Lymphocytes	2
Polynucléaires neutrophiles..	90
Moyens mononûcléaires	4
Grand mononucléaires	4

— *la recherche de la résistance globulaire* : normale ;

— *celle du temps de saignement* : 7 minutes ;

— *celle du temps de coagulation* : 8 minutes ; coagulation de type plasmatique.

Examens bactériologiques

a) Le 29 septembre 1929 : Hémoculture et microleucocytoculture en bouillon. En 24 heures. par les deux procédés, on

isole un bacille mobile à gram négatif présentant tous les caractères morphologiques et culturaux du *colibacille*. Le sérum de la malade agglutine ce germe au taux de 1/200.

Une microleucocytoculture en gélose profonde pratiquée en même temps, reste négative.

b) Le 2 octobre 1929 : Microleucocytoculture en bouillon et en gélose de Veillon.

La première reste négative.

Le 4 octobre : On note dans la profondeur de la gélose de Veillon une petite colonie ovalaire, située à peu près à l'union du tiers moyen et du tiers supérieur du milieu. Pas de dislocation du milieu : bacille trapu à bouts carrés à gram positif.

Le 4 octobre : *Hémoculture négative.*

Microleucocytoculture en gélose profonde : positive au bout de 24 heures ; petites colonies identiques à celles précédemment décrites.

L'examen de la couche leucocytaire étalée et colorée permet de voir au milieu de leucocytes altérés quelques bacilles isolés ou groupés, le plus souvent extra-cellulaires. Ces bacilles, volumineux, trapus, à bouts carrés ont la même morphologie et les mêmes affinités tinctoriales que ceux isolés par microleucocytoculture.

Par la même manœuvre pratiquée le 5 octobre, on trouve avec beaucoup de difficulté un seul bacille.

Examen bactériologique des urines. — Par examen direct et par ensemencement on isole d'une part un colibacille, d'autre part un bacille à bouts carrés gram positif semblable en tous points à celui isolé du sang.

Ce bacille se développe sur gélose ordinaire sous formes de colonies blanches, épaisses, visqueuses. En gélose Veillon développement abondant et éclatement du milieu.

Nous n'avons pas poussé plus loin l'identification de ce germe. Cependant la forme des colonies, l'aspect morphologique, l'allure de la maladie nous permettent d'affirmer que

notre malade était atteinte d'un ictère grave dû à une association microbienne : colibacille et perfringens.

Autopsie le 7 octobre 1930. — Une injection de liquide de Bonin pratiquée immédiatement après la mort, dans les régions lombaires et dans les hypochondres nous a permis de trouver des organes en un état de conservation suffisante.

Foie : gros, 1 k. 600. Type de foie infectieux, de teinte chamois, de consistance diminuée,se dilacérant facilement.

Histologiquement : Travées cellulaires disloquées. Rien ne subsiste plus de l'architecture de l'organe. Important œdème interstitiel.

Rate : D'aspect normal.

Reins : Volumineux, 280 grammes. A la coupe aspect inhabituel : pyramides verdâtres se détachant sur le fond rouge marron du reste du parenchyme. Substance corticale nettement augmentée de volume.

Histologiquement : Atteinte massive des tubes contournés et des glomérules.

Capsules surrénales, cœur : Normaux.

Poumons : Œdémateux. Nodules violacés de bronchopneumonie disséminés.

Utérus : Gros, caduque nette. L'ovaire gauche présente un corps jaune de grossesse.

Les frottis de foie, de rein et de rate pratiqués à l'autopsie montrent que les organes sont littéralement farcis de bacilles à bouts carrés prenant le gram. L'aspect rappelle celui que l'on observe dans les septicémies expérimentales du cobaye.

8° **Septicémie pesteuse.**

Obs. 86. — Due à l'obligeance de MM. les Drs Troisier et Boquien. Service du Dr Troisier, hôpital Bichat.

M. X... Début de la maladie trois jours avant l'entrée à l'hôpital par un frisson, élévation brutale de la température à 40°.

État général très grave. Dyspnée intense sans lésions appréciables à l'auscultation. Quelques ganglions inguinaux assez volumineux mais peu douloureux.

Le malade meurt le soir même.

Le 15 juillet 1930 à 9 heures du soir, on pratique en même temps une hémoculture, une microleucocytoculture en bouillon, une microleucocytoculture sur gélose inclinée.

Le lendemain matin, par les 3 procédés : cultures extraordinairement abondantes de bacilles de Yersin.

Sur une simple lame de sang colorée on trouve entre les globules rouges et blancs une quantité extraordinaire de bacilles en navettes ne prenant pas le gram.

Ces bacilles se retrouvent à peu près en quantité égale si l'on examine la couche leucocytaire après centrifugation du sang citraté. On en retrouve également au milieu des globules rouges déposés au fond du tube.

9° Endocardite lente à bacille de Pfeiffer.

Obs. 87-88-89. — Cette observation appartient à MM. Noël Fiessinger et Philippe Decourt qui la publieront prochainement intégralement. Nous nous contentons ici de la résumer très brièvement.

Mart... Malade atteinte d'insuffisance mitrale d'origine rhumatismale ancienne. Température élevée, irrégulière, pendant 6 mois. Du 7 février au 23 mai on pratique deux hémocultures et 5 microleucocytocultures qui restent négatives.

a) Le 9 mai : Microleucocytoculture en bouillon : développement en 6 jours d'une culture très grêle. Petit coccobacille ne prenant pas le gram se développant très mal sur tous les milieux.

b) Le 16 mai 1930 : Microleucocytoculture en bouillon : au bout de 4 jours on isole le même germe.

c) Le 19 juin : Microleucocytoculture en bouillon : positive vers le 1er juillet : même microbe.

Ce germe de virulence très atténuée, aérobie, se développant dans le liquide de concentration de la gélose inclinée donnant des petits grumeaux neigeux dans les bouillons, paraît bien être un *bacille de Pfeiffer*.

CHAPITRE III

—

VALEUR DE LA MICROLEUCOCYTOCULTURE

I . — Avantages de la méthode :

A la faveur des observations dont nous avons, ci-dessus, donné les détails, les avantages que l'on peut retirer de la pratique de la microleucocytoculture, nous semblent indiscutables :

1. — *Dans douze cas, l'hémoculture pratiquée en ensemençant quinze centimètres cubes de sang a été négative alors que la microleucocytoculture donnait, pour cinq centimètres cubes seulement, un résultat positif.* Grâce à elle, un cas de paratyphoïde B, entre autres, d'aspect très anormal et dont le diagnostic n'était cliniquement pas possible, a été aisément identifié. Au cours d'une phiegmatia alba dolens nous avons pu isoler un entérocoque, au cours d'une endocardite à forme lente un tétragène, alors que dans ces deux cas plusieurs hémocultures étaient restées sans résultat. Du même ordre sont les observations d'endocardite à cocco-

bacille de Pfeiffer, une observation de septicémie à staphylocoques, plusieurs observations de typhoïde, d'endocardites à streptocoques, de pneumonies.

2° *Dans une seconde catégorie de faits microleucocytoculture et hémoculture ont été toutes deux positives. Mais les résultats fournis par la première de ces méthodes ont été plus précoces.*

Cette avance de la microleucocytoculture a été le plus souvent, au cours des typhoïdes et des paratyphoïdes de 24 heures environ. Mais, au cours des endocardites malignes, elle a souvent été plus considérable, atteignant dans l'observation n° 52 le chiffre de 8 jours.

Sans doute, dans l'interprétation de ce décalage des résultats faut-il tenir compte du fait que la microleucocytoculture permet des ensemencements sur des milieux qui, tels que la gélose de Veillon, sont plus propices que le bouillon au développement du streptocoque. Mais cet argument ne joue pas dans certaines observations comme l'Obs. n° 50, où la microleucocytoculture en bouillon isole un streptocoque cinq jours avant l'hémoculture.

3° *D'ailleurs la possibilité de réaliser à peu de frais des ensemencements du sang en milieu anaérobie n'est pas un des moindres avantages de notre méthode.*

Nous n'avons observé qu'une infection à germe anaérobie strict. Il s'agissait d'un ictère grave à bacille perfringens. L'hémoculture avait isolé un colibacille de même d'ailleurs qu'une première microleucocytoculture. Par la suite cette méthode et cette méthode seule nous a permis d'obtenir dans la profondeur d'un tube de

gélose de Veillon une colonie de perfringens et de rapporter à sa véritable cause le syndrome que l'on observait en clinique.

Mais, si les infections à anaérobies proprement dits sont rares, combien sont fréquentes les races de streptocoques et de staphylocoques qui se développent mieux et plus rapidement à l'abri de l'air. Et ainsi la microleucocytoculture en gélose de Veillon devient-elle au cours des endocardites à streptocoques, par exemple, le procédé d'ensemencement du sang le plus utile.

4° Qu'on nous permette enfin d'insister, en terminant, sur un avantage purement matériel de notre méthode.

A trois reprises nous avons été amené à pratiquer des microleucocytocultures en ville. Pour cela nous nous sommes simplement muni d'une seringue stérile de 5 cc. et d'un tube à centrifuger stérile contenant quelques gouttes de citrate. Le prélèvement d'une quantité minime de sang se fait ainsi très facilement même chez des sujets pusillanimes. Le transport du tube à centrifuger au laboratoire est plus aisé que celui d'un ballon de bouillon et l'expérience nous a montré que l'ensemencement du tapis leucocytaire reste fertile même s'il est fait une heure ou deux après le prélèvement.

II. — Echecs et limites de la microleucocytoculture

Cinq fois au cours de fièvres typhoïdes, une fois au cours d'une paratyphoïde A, une fois au cours d'une

paratyphoïde B, l'hémoculture nous a donné un résultat positif alors que la microleucocytoculture restait négative.

Ces sept échecs de notre méthode sont les seuls que nous ayons enregistrés. On remarquera que nous les avons constatés à la maison Dubois et pour la plupart entre le mois de septembre 1929 et le mois de mars 1930. Nous n'hésitons pas à les mettre sur le compte d'une faute de technique : à cette époque nous avions pris l'habitude de mettre dans les tubes à centrifuger une quantité trop importante de citrate de soude et, dans bien des cas, poussant les choses à l'extrême, nous avons pratiqué des ensemencements trop légers. Aussi est-ce surtout pour bien montrer la nécessité d'une technique impeccable que nous avons tenu à rapporter ces observations.

***

Si la microleucocytoculture nous a permis quelquefois d'identifier des septicémies qui, sans elle, n'auraient pas été étiquetées, il nous faut ici avouer qu'elle ne nous a pas permis de réaliser, à proprement parler, de découvertes et que, en particulier, nos ensemencements sont restés infructueux au cours des maladies infectieuses à germe encore inconnu.

C'est ainsi que nos essais de microleucocytoculture au cours de l'épidémie de grippe de 1929 n'ont pas donné les résultats que nous en attendions. Les ensemencements sur les milieux les plus riches et les plus divers sont constamment restés négatifs.

C'est ainsi, également, qu'au cours de la rougeole, dans le service de notre maître le docteur Guillemot, au cours du rhumatisme articulaire aigu, dans les différents services hospitaliers où s'est écoulé notre internat, nous n'avons jamais réussi à isoler le moindre germe. Plus particulièrement, au cours de cette dernière maladie, nous avons pendant un an pratiqué systématiquement, pour tous les cas qui se présentaient à nous, hémoculture et microleucocytoculture. Nous n'avons jamais obtenu ni culture de streptocoques ni culture de bacilles d'Achalme.

Ces résultats négatifs ont par eux mêmes un intérêt ne serait-ce que celui de bien montrer combien sont rares les risques de souillure au cours de la microleucocytoculture.

***

Lorsque, nous nous sommes convaincu de la présence des germes pathogènes dans le tapis leucocytaire obtenu par centrifugation du sang citraté, nous nous sommes demandé s'il n'était pas possible d'inoculer directement aux animaux sensibles la couche virulente du sang et de réaliser ainsi une micro-leuco-inoculation.

Nous n'avons pas poussé très loin ces recherches et nous nous sommes contenté dans cinq pneumonies et dans trois cas de tuberculose aiguë d'inoculer le tapis leucocytaire à cinq souris et à trois cobayes. Ces expériences sont restées négatives, mais elles sont trop peu nombreuses pour que nous puissions en tirer une conclusion.

***

Parvenu au terme de la première partie de ce mémoire, il nous faut, pour éviter toute équivoque dire quels sont les rapports qui doivent à notre avis unir la microleucocytoculture et l'hémoculture.

Celle-là ne peut tendre à détrôner celle-ci. Plus simple, plus directe, plus facile à confier à un personnel d'hôpital, l'hémoculture a largement fait ses preuves et suffit dans la majorité des cas.

La microleucocytoculture est plus délicate, nécessite une technique plus parfaite, une habileté de spécialiste et si, dans certains cas, elle donne de meilleurs résultats, elle demande aussi beaucoup plus de soins.

Une place, à côté de son aînée, l'hémoculture ne peut cependant pas, nous semble t-il, être refusée à notre méthode.

DEUXIEME PARTIE

DE LA MICROLEUCOCYTOCULTURE A UNE THÉORIE GÉNÉRALE DES SEPTICÉMIES MÉDICALES

CHAPITRE Ier

LE POUVOIR BACTÉRICIDE DU PLASMA

La microleucocytoculture s'efforce de n'introduire dans les milieux qu'elle utilise, que le tapis leucocytaire vecteur de microbes et d'en éliminer les globules rouges et le plasma.

Nous croyons que si notre méthode donne d'une façon générale des résultats supérieurs à ceux de l'hémoculture ordinaire, cela est dû à ce qu'elle élimine aussi le pouvoir bactéricide du sang.

L'idée que ce pouvoir pouvait gêner ou fausser les résultats des ensemencements du sang n'est pas neuve. Dès 1900 Castellani recommandait d'utiliser, pour les hémocultures, une grande quantité de milieu de façon à réduire l'action retardante ou stérilisante du plasma.

Ranque et Senez, en 1911, ont préconisé un « procédé d'hémoculture rapide du sang désalexiné ». « Supposant, disent-ils, que le développement des bacilles du groupe Eberth était souvent retardé par la présence, dans le sang ensemencé, d'anticorps en quantité varia-

ble, que, d'autre part, ces anticorps ne peuvent exercer leur pouvoir inhibiteur qu'à la condition d'agir en présence de complément libre nous nous sommes proposé de fixer l'alexine ». Dans ce but ces auteurs ajoutaient, avant la mise à l'étuve, du sérum de lapin anti-humain au milieu de culture et ils observaient :

1° Une clarification du milieu due à l'agglutination presque immédiate des hématies ;

2° Un développement beaucoup plus précoce des germes : décalage de plus de trente-six heures dans certains cas entre les milieux ensemencés avec la même quantité de sang, les uns contenant du sérum anti-humain, les autres n'en contenant pas.

Boez, plus récemment, démontre que l'abaissement artificiel du pH sanguin détruit le pouvoir bactéricide du plasma. Il applique cette notion à sa méthode d'hémoculture en milieu solide en recueillant le sang sur une solution stérile de citrate *acide* de soude. Puis il l'ensemence sur un milieu alcalin car la destruction du pouvoir bactéricide est rapide et définitive : quelques minutes de contact avec le citrate acide suffisent. Grâce à ce procédé Boez obtient des résultats plus constants et plus précoces que par son ancienne méthode.

Ainsi donc, les constatations de Ranque et Senez et celles de Boez sont très comparables aux nôtres. Cela ne peut être dû qu'à l'élimination du pouvoir bactéricide puisque c'est là le seul point commun à nos trois méthodes.

Convaincu de la vérité de ce qui précède, nous avons cherché à supprimer d'une façon encore plus complète

l'action du plasma, en lavant le tapis leucocytaire dans du sérum physiologique, avant de l'ensemencer. Pour cela prélevant le dit tapis, nous le déposions dans un tube à centrifuger rempli de sérum physiologique stérile et nous centrifugions à vive allure.

Dans un cas de fièvre typhoïde, l'ensemencement du culot ainsi obtenu nous a donné en 24 heures une culture de bacilles d'Eberth alors que l'hémoculture et la microleucocytoculture restaient stériles.

Cependant ce procédé nous a paru d'une technique trop délicate pour être utilisé d'une façon courante. Même en prenant les plus grandes précautions nous avons observé, en effet, un pourcentage important de souillures.

Tout récemment R. Cecil, E. Nicholls, W. Stainsby ont imaginé un nouveau mode d'hémoculture qui leur permet d'éliminer le sérum. Ils ensemencent uniquement des fragments de caillot de sang infecté. De cette façon ils réussissent aux cours du rhumatisme chronique, à isoler dans un nombre de cas impressionnant, une variété de streptocoques. Leur technique nous paraît toutefois plus compliquée et plus difficile que la nôtre. Elle expose certainement à plus de souillures.

Désirant nous rendre compte de la puissance du pouvoir bactéricide du plasma, nous avons pratiqué, au cours de la typhoïde toute une série d'expériences. Mais avant d'exposer nos recherches et nos résultats il convient de faire un bref exposé de l'état actuel de la question.

*
* *

Il est bien établi actuellement qu'il existe dans le sang normal de l'homme ou des animaux des propriétés bactéricides dont la difficile étude a suscité depuis la fin du siècle dernier de nombreux travaux.

Les premiers expérimentateurs Fodor, Behring, Nissen, Nuttal avaient étudié le pouvoir bactéricide du sang total. Buchner, de Munich, en 1889-1893, découvre le premier que cette propriété réside non dans les éléments cellulaires, mais dans le sérum et le plasma. Il met en évidence la thermolabilité de la substance empêchante qu'il dénomme alexine.

Parmi tous ceux qui se sont occupés de cette question il faut citer ici surtout les noms de Behring et Nissen, de Charrin et Roger, de J. Bordet et de Brocq-Rousseu qui l'un dans son *Traité de l'immunité au cours des maladies infectieuses*, l'autre dans son *Traité du sérum normal* en ont fait une étude d'ensemble.

Le sérum et le plasma sont bactéricides pour un nombre considérable de germes. Pour Wirtz ils le seraient surtout pour ceux qui prennent le gram.

Les recherches de Bengel, de Roux et Martin, de Krauss et Sordelli, de Corvie et Greenthal, de Mackie, ont montré que le sérum normal de certains chevaux possédait une action remarquable contre la diphtérie.

Makensie et Martin, Matzunami et Kolmer ont trouvé au sérum humain un pouvoir bactéricide important, pour le méningocoque.

La même propriété a été mise en évidence par Glough

en 1924 contre le pneumocoque, par Pettersen à l'égard du colibacille, du bacillus subtilis, du bacillus anthracis, du bacillus Proteus, du streptocoque, du pneumocoque, du staphylocoque, du bacille sporogenes.

Récemment enfin, Courmont et Gardère ont montré que le sérum sanguin des tuberculeux est bactéricide pour le bacille de Koch.

Mais ce sont les propriétés bactéricides du sang à l'égard des bacilles du groupe Eberth qui ont suscité le plus grand nombre de travaux. Ce sont elles que nous aurons uniquement en vue désormais, puisque c'est sur elles seules qu'ont porté nos recherches.

***

L'action du sérum humain normal, de celui des typhiques, de celui des vaccinés, vis-à-vis du bacille d'Eberth a été étudiée par Korte et Sternberg, Topfer et Jaffé, Lobenheimer, Howard, F. Widal, Al. Georgewitch, Bozendorfer, pour ne citer que les principaux. Chez la souris, cette étude a été poursuivie par Léonie Gillot.

La plupart des auteurs se sont demandé s'il était possible de considérer l'augmentation du pouvoir bactéricide du sérum et du plasma à l'égard du bacille d'Eberth, comme un test fidèle d'immunité. Beaucoup d'entre eux sont arrivés à la conclusion à laquelle nous avons nous-même abouti. Ainsi que nous l'avons, avec notre maître Noël Fiessinger, exposé dans un article de la *Presse Médicale* du 19 septembre 1928 : Il n'y a aucune différence entre le pouvoir bactéricide du sérum et du plasma

des vaccinés, des convalescents de fièvre thyphoïde, des typhiques, des sujets indemnes.

Cependant, Topfer et Jaffé, Widal, Korte et Sternberg observent une augmentation considérable de ce pouvoir chez les vaccinés. Ranque et Senez, expérimentant sur les lapins, font les mêmes constatations.

Mais Widal lui-même ayant étudié les différentes réactions du sang après la vaccination antityphoïdique et antiparatyphoïdique, conclut que la recherche du pouvoir bactéricide est « la plus inconstante » de toutes celles qu'il a étudiées et qu'on ne saurait donc, « comme certains l'ont pensé, trouver en elle un témoin sûr de l'immunité ». Korte et Sternberg remarquent qu'au décours de la fièvre typhoïde, une récidive peut survenir même si la puissance bactéricide du plasma est très élevée.

Les même conclusions s'imposent à Maurice Nicolle, Ch. Jouan et Debains qui, étudiant l'action bactéricide des sérums antimicrobiens, font incidemment l'étude du pouvoir bactéricide chez les vaccinés. Seiffert enfin, seul d'ailleurs de son avis, va plus loin et affirme que le sérum humain est infiniment plus bactéricide que le sérum des typhiques ou que celui des vaccinés.

Sans doute, comme le fait remarquer Delalande, qui dans sa thèse fait un remarquable exposé de la question, on ne peut conclure absolument d'expériences effectuées *in vitro* de ce qui se passe *in vivo* et cet auteur cite, à ce propos les expériences de Jelin, qui introduisant dans le péritoine d'un cobaye immunisé, des bacilles typhiques inclus dans des petits rouleaux de papier filtre,

constate que ces bacilles conservent leur vitalité. Il ne semble pas cependant que l'existence de propriétés bactéricides du sérum normal vis-à-vis du bacille d'Eberth, propriétés d'ailleurs variables et sans rapport apparent avec l'immunité puisse être sérieusement contestée.

***

Nos recherches personnelles ont été l'objet d'un article paru dans la *Presse Médicale* (1). Aussi nous contenterons-nous ici de les résumer.

Une première série d'expériences nous a montré que l'action du plasma n'est pas immédiate et qu'un certain temps de contact est nécessaire, pour que le pouvoir bactéricide se manifeste. Plus le temps de contact est long, plus parfaite est la destruction bactérienne. C'est ainsi que réalisant des mélanges au taux de 1/200 et de 1/1000 avec une émulsion de bacilles d'Eberth et le sérum d'une malade en pleine rechute de fièvre thyphoïde, portant ensuite ces mélanges à l'étude et les y maintenant en pipettes closes, nous avons constaté que les ensemencements pratiqués après un contact de 4 et de 6 heures étaient positifs contrairement à ceux pratiqués au bout de 24 heures. Lorsque le contact entre les microbes et le plasma n'est pas suffisamment prolongé l'action bactéricide se traduit non pas par une destruction microbienne mais par un retard dans le développement ultérieur des germes.

---

(1) Noël Fiessinger et R. Cattan. — Le pouvoir bactéricide du plasma et du sérum à l'égard du bacille d'Eberth. *Presse Médicale*, 19 septembre 1928, p. 1185-1188, n° 75.

Le pouvoir bactéricide disparaît par chauffage mais nous avons pu, à la suite d'ailleurs de la plupart des expérimentateurs, réactiver le sérum par l'addition de quelques gouttes de sérum de cobaye.

D'une façon générale le plasma nous a paru chez un même sujet légèrement moins actif que le sérum.

Enfin nous n'avons pas pu établir de rapport entre l'immunité et le pouvoir bactéricide. Chez des convalescents de fièvre typhoïde, chez des vaccinés celui-ci est quelquefois beaucoup moindre que chez des typhiques en pleine évolution.

Telles sont les principales conclusions auxquelles nous avons abouti : On voit qu'elles ne s'écartent pas sensiblement de celles de nos prédécesseurs.

Mais le point le plus important de nos recherches, tout au moins pour la compréhension de ce qui va suivre, est celui où nous avons essayé d'évaluer, de mesurer le pouvoir bactéricide du plasma et du sérum.

Les expérimentateurs, pour la plupart, se sont contentés d'exprimer en « anse de platine » les quantités des germes qu'ils exposaient à l'action du plasma ou à celle du sérum. Nous avons voulu utiliser une technique plus précise et, pour cela, nous nous sommes servi d'un test néphélémétrique que nous avions établi avec un vaccin T. A. B. dosé à 4 milliards 200 millions de germes par centimètre cube. Nous établissions avec une culture de bacilles d'Eberth de 24 heures, une dilution de transparence identique à celle de notre test. Puis par dilutions successives nous obtenions des solutions contenant 100.000, 10.000, 1000 germes par centimètre cube.

Ces numérations étaient évidemment fort approximatives mais telles quelles elles nous ont permis de nous faire de la puissance bactéricide des sérums et des plasmas que nous étudions une idée plus précise que celle des différents auteurs qui se sont occupés de la question.

Nos recherches nous ont permis de constater que le sérum normal, celui des convalescents de typhoïde, celui des typhiques en évolution est, dans la grande majorité des cas, bactéricide pour toute concentration de moins de 100.000 germes par centimètre cube.

Voici deux de nos expériences :

Grâce à notre test néphélémétrique et par dilutions successives on obtient une suspension de bacilles d'Eberth dosée à 100.000 bactéries par centimètre cube.

Avec les sérums que nous indiquerons tout à l'heure on réalise les solutions suivantes :

1 goutte de suspension + IX gouttes de sérum : 10.000 germes par cc.

1 goutte de la dilution 1 + IX gouttes de sérum : 1000 germes par cc.

1 goutte de la dilution 2 + IX gouttes de sérum : 100 germes par cc.

Ces dilutions sont laissées 4 heures à l'étuve puis ensemencées en bouillon ou en boîte de Petri. On fait des témoins avec du sérum isotonique.

Expérience I :

Sérum A : Normal. M. B..., 42 ans. Grippe guérie.

Sérum B : Typhique convalescent après dix jours d'apyrexie, 29 ans.

Sérum C : Typhique convalescent, 22 ans, après rechute et phlébite :

Les cultures ne sont positives que pour les témoins. Les sérums A, B et C sont bactéricides pour 100, 1000 et 10.000 bactéries par centimètre cube.

Expérience II :

Sérum A : M. L... Fièvre typhoïde avec mauvais état général chez un homme de 40 ans. Température 40. Quinzième jour de la maladie.

Sérum B : M. B... Cancer de l'estomac chez un homme qui n'a jamais eu la typhoïde et n'a jamais été vacciné.

Même technique, mêmes résultats que dans l'expérience n° 1.

En admettant même une erreur de technique au centième, on voit que, *in vitro* tout au moins, le pouvoir bactéricide du sérum et du plasma à l'égard du bacille d'Eberth est considérable.

***

Or la fièvre typhoïde est la maladie où l'on a le plus souvent l'occasion d'isoler, par ensemencement du sang, des bacilles parfaitement vivants et virulents.

Quelle est donc, au cours de cette affection, la densité de la bactériémie ? Combien 1 cc. de sang contient-il de bacilles typhiques au cours d'une typhoïde à la période d'état ?

Il en contient très peu. P. Hébert et M. Bloch ont fait pendant la guerre des expériences désormais classiques qui leur ont montré que le taux de bactériémie variait,

au cours de la fièvre typhoïde, entre 0,2 et 10 éléments par centimètre cube de sang. Nous avons, nous-même, reproduit les expériences de ces auteurs, en utilisant comme milieu de culture de l'eau peptonée au lieu de bile. Nous avons également pratiqué des numérations de germes en ensemençant 10 cc. de sang sur un milieu solide suivant la méthode de Boez.

Ces expériences que nous avons rapportées en détail dans notre article de la *Presse Médicale* ont confirmé point par point les expériences de nos prédécesseurs : On peut affirmer qu'au cours de la typhoïde il y a dans le sang le plus souvent moins de 50 éléments microbiens et même moins de 10 par centimètre cube de sang.

***

C'est là une constatation qui ne laisse pas d'étonner lorsqu'on connaît la puissance du pouvoir bactéricide du sang au cours de cette affection : Le plasma qui *in vitro* détruit des dizaines de milliers de germes laisse intactes, *in vivo*, quelques unités bacillaires.

Une première explication de ce fait pouvait être fournie par la notion du temps de contact.

Au cours de la fièvre typhoïde, les bacilles ne séjournent pas dans la circulation générale. Ils ne font qu'y passer très rapidement. Peut-être alors le contact entre ces bacilles et le plasma n'est-il pas assez prolongé pour que se manifeste le pouvoir bactéricide.

Cette hypothèse est infirmée par les faits de culture autogène dans le sang des typhiques rapportés en 1903

par notre maître André Lemierre. Cet auteur prélevant du sang dans un ballon contenant des perles de verre, le défibrinait par agitation. Après quelques jours d'étuve à 37°, il observait, par l'examen direct au microscope, que les bacilles s'étaient développés dans le sang lui-même. Les résultats étaient cependant toujours plus tardifs que par le procédé d'hémoculture ordinaire et l'action du plasma semblait être plus une action retardante qu'une action de lyse.

Nous avons réalisé nous-même une expérience du même ordre : Prélevant par deux fois chez un typhique 20 cc. de sang sur une solution stérile de citrate de soude, nous avons déposé ce mélange à l'étuve et nous l'y avons laissé vingt-quatre et quarante-huit heures. Au bout de ce temps nous avons ensemencé ce sang. Ces hémocultures retardées ont été rapidement positives.

Ainsi après un séjour très prolongé du sang d'un typhique à l'étuve, les bacilles qui s'y trouvent ne sont pas détruits par le plasma. Ils peuvent même se développer, quoique assez difficilement, dans ce milieu qui, par ailleurs, se montre à l'égard des souches de bacilles d'Eberth, même très virulents et très jeunes, extraordinairement bactéricide.

Nous verrons dans le chapitre suivant comment ceci devait nous mettre sur la voie de la microleucocytoculture.

CHAPITRE II

—

LEUCOCYTES ET BACTÉRIES

Laissons de côté, pour le moment, cette constatation paradoxale d'un plasma extraordinairement bactéricide *in vitro*, à peu près inactif *in vivo* ; ou plutôt, étudions la microleucocytoculture d'un autre point de vue ; abordons le problème sous un autre angle.

Il importait tout d'abord de rechercher si, après centrifugation du sang infecté, les germes se réunissent tous dans la zone des leucocytes, s'il n'en reste pas dans le culot de centrifugation et dans le plasma.

De nombreux ensemencements du plasma et des globules rouges prélevés à différentes hauteurs nous ont montré qu'il en est presque toujours ainsi.

Daus deux de nos cas, seulement, nous avons obtenu des cultures microbiennes par l'ensemencement de tous les éléments que la centrifugation superpose. L'un était un ictère grave à B. perfringens (obs. 83, 84, 85), l'autre une septicémie pesteuse (obs. 86). Or, dans ces deux observations, il s'agissait non d'une simple bactériémie,

mais d'une véritable culture de germes dans le sang.

De ces cas particuliers, on ne saurait tirer de conclusion générale et nous verrons plus loin à quel point n'est qu'apparente la contradiction qu'ils semblent apporter aux idées que nous exposons.

***

Nous admettrons donc comme démontré que, presque toujours, les bactéries au cours de la centrifugation se rassemblent au niveau du tapis leucocytaire.

Allons plus loin. Dans cette couche virulente du sang quelle place occupent les bactéries par rapport aux éléments qui la composent?

Nous avons d'abord essayé de voir les germes eux-mêmes, au microscope, après étalement et coloration de la couche leucocytaire.

Cela ne nous a été possible que dans nos deux cas d'ictère grave à perfringens et de septicémie pesteuse. Les bactéries étaient ici et là fort nombreuses. Nous avons même noté que les bacilles de Yersin ne l'étaient pas beaucoup moins à l'examen du sang total qu'à celui de la couche leucocytaire. Deux des figures que nous avons jointes à ce travail, rendent bien compte de l'intensité de l'infection sanguine dans ces deux observations, qui sont, nous l'avons déjà dit, très particulières et dont pour l'instant, on nous permettra de ne pas tenir compte.

Dans tous les autres cas nos efforts ont été vains. Si l'on se souvient de ce que, dans le précédent chapitre

nous avons dit des numérations de germes dans le sang au cours de la typhoïde, cela ne peut paraître étonnant : Car, comment pourrait-on, au milieu de milliers et de milliers de leucocytes découvrir les deux ou trois unités bactériennes qui s'y trouvent vraisemblablement?

Nous en sommes donc réduit à formuler des hypothèses et parmi toutes celles qui s'offrent à nous il en est trois qu'il importe surtout d'étudier :

1° Ou bien les bactéries sont libres dans le sang circulant et c'est leur densité seule qui les place au cours de la centrifugation entre les globules rouges plus lourds et le plasma plus léger, pêle-mêle avec les leucocytes et les plaquettes ;

2° Ou bien les bactéries sont libres mais agglutinées, accolées aux éléments qui composent ce que nous avons appelé le tapis leucocytaire ;

3° Ou bien les bactéries sont phagocytées.

***

1° Il est logique de penser que la densité bactérienne joue un rôle important dans le phénomène que nous étudions. Cependant chaque fois que nous avons essayé expérimentalement de vérifier cette action nous avons échoué. Voici, d'ailleurs, à titre d'exemple, deux de nos expériences :

Expérience n° 1.

18 novembre 1923 : On prélève à un sujet sain 5 cc. de sang qui sont immédiatement recueillis par un tube à centri-

fuger stérile contenant une quantité suffisante d'une solution de citrate de soude à 30 %.

D'autre part, on dispose d'une culture de 24 heures de bacilles de Friedlander. On ajoute au sang prélevé deux gouttes d'une émulsion de cette culture dans du sérum physiologique.

On centrifuge et avec les plus grandes précautions on ensemence sur bouillon et gélose successivement et en changeant de pipette chaque fois :

1° une goutte du plasma ;

2° un fragment du tapis leucocytaire ;

3° une goutte de globules rouges prélevés en renversant brusquement le tube et tout au fond de celui-ci.

Au bout de 24 heures tous les ensemencements sont positifs.

Expérience n° 2.

16 juillet 1930 : Même technique, mais, d'une part, on opère avec une souche de bacilles d'Eberth, et d'autre part, on essaye de ne mêler au sang que la plus petite quantité de germes possibles.

Pour cela, on se contente, après avoir plongé un fil de platine dans une culture en bouillon de bacilles d'Eberth, d'agiter ce fil dans 10 cc. de sérum physiologique. On mêle ensuite une goutte de ce sérum au sang prélevé, on centrifuge et on ensemence comme dans l'expérience n° 1. Résultats positifs pour tous les ensemencements.

Certes ces expériences ne réalisent pas les conditions exactes de la microleucocytoculture. Quel que soit le procédé que nous ayons employé nous avons toujours mêlé à du sang normal une quantité de germes infiniment supérieure à celle qui se trouve habituellement dans le sang infecté. Telles quelles cependant, et parce

que nous les avons reproduites de très nombreuses fois, nous croyons qu'il faut leur accorder une certaine valeur.

D'autre part nous avons déjà dit qu'au cours du cas de peste septicémique que nous avons étudié, les bacilles de Yersin ne nous avaient pas semblé plus nombreux à l'examen direct de la couche leucocytaire qu'à celui du sang total. Il y avait également des bacilles épars au milieu des globules rouges que nous avons prélevés dans le fond du tube mais ils étaient beaucoup moins nombreux que dans les couches supérieures.

Ces constatations sont tout à fait conformes aux résultats de nos expériences. Mais nous verrons plus loin à quel point une septicémie comme la peste est différente des bactériémies habituellement observées en clinique, et il n'en reste pas moins que, au cours de celles-ci, le tapis leucocytaire est la seule couche virulente du sang citraté et centrifugé.

De tout ceci nous pouvons conclure que si la densité microbienne doit, semble-t-il, jouer un rôle dans le déterminisme du phénomène qui nous occupe, nous n'avons pu le démontrer expérimentalement et d'autres facteurs croyons-nous, interviennent.

*
* *

2° Nous avons énoncé, comme suit, la seconde hypothèse : « Ou bien les bactéries sont libres, mais agglutinées, accolées aux éléments qui composent le tapis leucocytaire ». Ces éléments sont, d'une part, les globules

blancs, d'autre part les plaquettes. C'est de celles-ci surtout que nous avons voulu parler.

Delrez et Govaerts, en 1918, étudiant, à la suite de Bull, le mécanisme de l'élimination des microbes introduits expérimentalement dans le sang, ont décrit les premiers le phénomène très particulier de l'accolement des bactéries aux plaquettes.

Ces auteurs injectent dans les veines d'un lapin une émulsion de staphylocoques ou de Para B. La quantité de microbes par centimètre cube de sang diminue rapidement pendant les premières secondes qui suivent l'injection, plus lentement ensuite. De plus, si l'on fait, par ponction de la carotide des prises de sang successives et de minute en minute on constate :

1° Qu'immédiatement après l'injection, les microbes sont nombreux et libres ;

2° Que dans les minutes qui suivent ils s'accolent aux plaquettes qui, elles-mêmes, s'agglutinent entre elles ;

3° Qu'on ne trouve plus finalement que des amas de plaquettes et de bactéries. Ceux-ci deviennent d'ailleurs de plus en plus rares et finissent par disparaître.

Sur les lames de sang fixées et colorées les amas de plaquettes et de bactéries ont un aspect blanchâtre, flou très particulier. Ils avaient été interprétés par Bull, qui les a vus le premier, comme des agglutinats bactériens. Govaerts fait remarquer qu'il s'agit certainement d'un tout autre phénomène car si les bactéries sont accolées aux plaquettes sanguines elles n'ont le plus souvent pas de contact entre elles.

Qu'il nous suffise dans ce chapitre d'avoir soulevé

l'hypothèse de l'accolement des bactéries aux plaquettes. Faisons remarquer que Govaerts considère que c'est là un des principaux procédés dont l'organisme dispose pour se débarrasser des germes introduits dans la circulation générale. Cetemplaquettement ne se voit jamais en effet au cours des septicémies mortelles expérimentales ; il est uniquement le fait des bactériémies transitoires.

Nous reprendrons, plus loin, l'exposé des théories de Govaerts sur la physiopathologie des septicémies. Pour l'instant, nous pouvons conclure qu'au cours des bactériémies humaines l'accolement aux plaquettes est un phénomène très plausible.

***

3° Les bactéries ne sont ni libres ni accolées aux plaquettes. Elles sont, vivantes et virulentes, à l'intérieur des leucocytes : telle est notre troisième hypothèse.

A priori, elle ne soulève pas d'objection définitive. Les bactéries peuvent vivre et se développer dans les polynucléaires du pus. C'est là un fait aujourd'hui bien connu et à l'appui duquel il est classique de citer les exemples de la blennorragie et de la méningite cérébrospinale. Le bacille de Koch lui-même vit et se reproduit à l'intérieur des cellules géantes.

Le temps n'est plus où certains auteurs comme Baumgarten pensaient que les leucocytes n'étaient capables d'englober que des bactéries mortes, qu'ils n'en étaient

que les fossoyeurs. Metchnikoff et ses élèves, s'élevant en faux contre cette assertion, ont réalisé une série d'expériences absolument concluantes, et que Tarassevitch rapporte en détail dans son remarquable article sur la phagocytose (*Traité du Sang*. Gilbert et Weimberg). Ces auteurs ont même pu observer en « goutte pendante » la multiplication de bactéries englobées par les phagocytes.

C'est à tort, d'ailleurs, que l'on est tenté de désigner cet englobement sous le nom de phagocytose. Celle-ci comprend en outre la digestion des microbes. Là où ce dernier acte fait défaut, où les bactéries résistent à l'action des ferments intracellulaires, les germes peuvent non seulement vivre mais aussi se développer à l'intérieur des phagocytes.

Ce qui est vrai pour les leucocytes du pus l'est-il également pour les leucocytes du sang ? Ou plutôt ceux-ci sont-ils au même degré capables de phagocytose ?

Commandon, à l'aide du cinématographe, a montré que les leucocytes se disposent, dans les vaisseaux sanguins, suivant deux grands modes : Les uns sont accolés aux parois, les autres sont entraînés au centre du courant, pêle-mêle avec les globules rouges. Dans l'ensemble, ils ont paru à cet auteur à peu près incapables de mouvements et de phagocytose.

Delbet et Fiessinger ont également constaté que les leucocytes du sang ne paraissent pas dans la majorité des cas animés de mouvements. Cependant, disent-ils, ils ont pu voir quelquefois « des leucocytes du sang

qui, entre lame et lamelle, poussaient des pseudopodes, les retiraient, en poussaient d'autres et toujours avec ces mouvements insensibles et en bavure qui signalent l'amiboïsme. Le pseudopode du polynucléaire du sang est semblable à celui de l'amibe. Il est réfringent et contraste avec le corps granuleux de la cellule ».

Nous-même, dans les deux observations où nous avons pu voir des bactéries à l'examen direct de la couche leucocytaire (Ictère à perfringens et septicémie pesteuse) avons observé quelques figures de phagocytose. Il n'était pas possible d'expliquer ces images par une superposition artificielle des éléments au cours de l'étalement, car nous avons vu des bacilles à l'intérieur de vacuoles digestives et d'autres en état de lyse.

Rien ne s'oppose donc à ce que dans le sang circulant, sous l'influence des anticorps plasmatiques, opsonines entre autres, les bacilles en petit nombre soient captés au passage par les leucocytes.

D'ailleurs, comme nous le verrons, point n'est besoin d'invoquer cette phagocytose intra-vasculaire. Les polynucléaires pourraient, aussi bien, englober les germes pathogènes dans les foyers parenchymateux, ganglionnaires, ou dans la moelle osseuse et de là être emportés secondairement avec leur charge microbienne vers d'autres régions et en particulier vers les émonctoires.

L'hypothèse du transport intra-leucocytaire des bactéries a déjà été défendue par Veillon et Sacquépée et par Govaerts entre autres. Ce dernier constate que chez le chien l'injection intraveineuse de staphylocoques provoque une phagocytose intense et rapide. Presque aus-

sitôt les leucocytes disparaissent du sang et les colonies bactériennes obtenues par hémoculture diminuent considérablement en nombre.

Une demi-heure plus tard, on assiste à un retour des leucocytes et ce retour est marqué par un crochet ascendant de la courbe de l'infection sanguine. A ce moment Govaerts a pu constater la présence de nombreux staphylocoques intra-leucocytaires. Et, de cette expérience, il tire un gros argument en faveur de l'hypothèse que nous émettons après lui.

Peut-on aller plus loin ? Les leucocytes capables de transporter des bactéries vivantes ne les protègent-ils pas contre l'action bactéricide du plasma ?

C'est ici que nous retrouvons la constatation étrange sur laquelle nous avons terminé le précédent chapitre : Le plasma, bactéricide expérimentalement pour des doses énormes de bacilles typhiques, n'a, au cours d'un séjour prolongé d'un sang infecté à l'étuve, aucune action sur la virulence ou la vitalité des quelques unités bactériennes qui s'y trouvent.

Sans doute, faut-il, dans l'explication de ce fait, tenir compte de certaines modifications des bactéries elles-mêmes. Bordet a fait à ce sujet de remarquables expériences :

Injectant, tout d'abord, dans la cavité péritonéale d'un cobaye, 0 cc., 1 d'une culture sélectionnée très virulente de streptocoques il observe que les bactéries sont phagocytées très rapidement, et en totalité. Il reprend alors la même expérience en injectant une dose de 0 cc., 2 qu'il sait léthale ou subléthale. Cette fois,

tous les microbes ne sont pas englobés : quelques-uns restent libres et se multiplient. Bordet observe alors qu'ils changent d'aspect. « Ils s'entourent, dit-il, d'une auréole assez large que le bleu de méthylène colore en violet pâle ». Au bout de deux à trois heures ils se reproduisent par scissiparité et les individus auxquels ils donnent naissance sont comme eux auréolés et, comme eux, se dérobent à l'englobement.

D'autres auteurs ont fait, sur d'autres microbes, les mêmes constatations : Serafini, Sawtchenko, Gratia, plus récemment, ont observé le même phénomène au cours du charbon expérimental. Lohlein, en 1906, a montré que le bacille de Yersin pouvait dans certains cas subir des transformations analogues. Enfin, on sait que le pneumocoque cultivé sur des milieux albumineux s'entoure, dans certains cas, d'une capsule épaisse et Bordet y voit un phénomène du même ordre.

Mais, comme le fait remarquer Govaerts, les faits que nous venons de rapporter n'intéressent que certains germes extrêmement virulents. Ils n'ont jamais été constatés pour la majorité des autres. Hopkins et Parker, Govaerts lui-même, n'ont pas pu en outre par la transfusion du sang de lapin infecté à un lapin sain, réaliser une septicémie plus grave que par l'injection intraveineuse d'une culture virulente. L'adaptation des bactéries à un milieu défavorable est cependant une hypothèse qui rend admirablement compte des expériences de culture autogène de notre maître André Lemierre et il n'est pas possible de ne pas en tenir compte.

On peut, toutefois, essayer d'expliquer d'une autre façon la survie des bactéries dans le sang citraté à l'abri semble-t-il du pouvoir bactéricide du plasma. En 1916 Peyton Rouss et F. S. Jones faisaient paraître dans *The Journal of experimental Medicine* un travail dont le titre, à tout le moins paradoxal, était celui-ci : « De la protection qu'exercent certaines cellules vivantes sur certains microorganismes pathogènes ».

Ce mémoire comprend deux parties : L'une se rapporte à la protection qu'exerce, à l'égard d'hématies soumises à l'action d'un sérum hémolytique, la phagocytose de ces hématies; l'autre, qui nous intéresse davantage, à la protection des bactéries soumises à l'action d'un sérum bactéricide, par l'englobement leucocytaire.

Les auteurs réalisent un mélange de bacilles d'Eberth et d'une émulsion de leucocytes de cobaye. Ils y ajoutent du sérum de cobaye dilué et une petite quantité de sérum de lapin (naturellement bactéricide pour le bacille d'Eberth). Le sérum de lapin est ajouté ici pour favoriser la phagocytose. Après une heure de contact à l'étuve la plupart des bactéries sont englobées ainsi que l'on peut s'en rendre compte par des étalements et des colorations.

Le mélange est alors mis en contact avec une grande quantité de sérum de lapin très bactéricide et maintenu deux heures à 37°. Au bout de ce temps on procède à son ensemencement sur boîtes de Petri.

Des témoins sont institués avec des mélanges contenant l'un de la solution de Locke, des leucocytes et des bacilles, mais pas de sérum; un autre de la solution de

Locke, du sérum de cobaye, du sérum de lapin, mais pas de leucocytes ; un dernier enfin contenant de la solution de Locke et des bacilles sans sérum ni leucocytes.

Au bout de 17 heures, l'ensemencement du premier mélange a donné naissance à beaucoup plus de colonies que l'ensemencement des trois autres.

Dans une seconde série de tubes à essai (B) et avant la deuxième mise à l'étuve on remplace le sérum de lapin par du liquide de Locke. De cette façon on supprime toute action bactéricide humorale et les colonies que l'on obtient sont moins nombreuses pour le premier mélange que pour les autres.

Voici au surplus la reproduction du tableau qui résume ces intéressantes constatations.

Expériences	Solution de Locke cm³	Leucocytes cm³	Bouillon cm³	Sérum de cobaye dilué à 50 % cm³	Sér. de lapin anti-Eberth 2 %	A	Colonies ap. 12 h. p. cm³	B	Colonies
N° 1	—	0,2	0,2	0,1	0,1	Après une heure d'incubation 0 cm³ de chaque mélange sont mis en contact avec 2 cm³ 4 de lapin normal. Après deux h. d'étuve on ensemence 0 cm³ 5 de chaque mélange sous 6 cm³ de gélose.	211 294	Même procédé que A mais le sérum de lapin est remplacé par du liquide de Locke.	environ 500
N° 2	0,2	0,2	0,2	—	—		72 49		très nombreuses
N° 3	0,2	—	0,2	0,1	0,1		10 13		incomptables
N° 4	0,4	—	0,2				25 27		incomptables

Une telle série d'expériences, complétée par celles tout aussi importantes qui concernent la protection des hé-

maties par les phagocytes qui les englobent contre l'action hémolysante du plasma ne laisse semble-t-il, pas de place au doute.

Nous-même, en collaboration avec notre maître Noël Fiessinger, avons rapporté, dans notre article de la *Presse Médicale* déjà cité, un fait du même ordre :

Nous avons mis en contact pendant trois heures une dilution de bacilles d'Eberth au millième et, successivement, du sérum seul, du plasma seul, du sérum et du plasma additionnés de leucocytes et d'hématies, le tout provenant de la centrifugation du sang d'une typhique guérie.

Puis nous avons ensemencé chacun de ces mélanges et après soixante heures d'attente nous n'avons obtenu de culture de bacilles d'Eberth que pour les mélanges contenant des leucocytes :

Sérum seul	0
Sérum + 1/10 d'hématies	0
Sérum + 1/10 de leucocytes	+
Plasma seul	0
Plasma + 1/10 d'hématies	douteux
Plasma + 1/10 de leucocytes	+

Nous avons répété cette expérience de la façon suivante :

Dilution bactérienne au millième ; même technique que dans l'expérience précédente.

Temps de contact à l'étuve avant l'ensemencement : 3 heures.

On dispose de 3 malades :

Malade 1. — Mme D..., 28 ans, typhique en évolution.

Malade 2. — M. G..., 17 ans, convalescent apyrétique depuis 8 jours.

Malade 3. — M. J..., 27 ans, convalescent apyrétique depuis 8 jours.

	Résultats obtenus au bout de		
	24 heures	48 heures	60 heures
Malade I :	—	—	—
Sérum	0	0	0
Sérum : 1/10 de leucocytes de malade 2	+	+	+
Sérum : 1/10 de leucocytes de malade 3	0	0	0
Malade II :			
Sérum	0	0	0
Sérum : 1/10 de leucocytes de 2	0	0	0

Cette dernière expérience n'est sans doute pas, par elle-même, très démonstrative, mais de l'ensemble de celles que nous avons citées ne peut-on conclure d'une façon ferme que, dans certaines conditions, les phagocytes sont capables de protéger les germes pathogènes contre l'action bactéricide du plasma et du sérum ?

***

Si nous essayons de résumer en quelques formules, le contenu des deux chapitres précédents, nous arrivons aux conclusions suivantes :

1° Le sérum et le plasma sont doués d'un pouvoir bac-

téricide extrêmement puissant capable de détruire *in vitro*, des milliers et milliers de germes;

2° Cependant la mesure de ce pouvoir n'est pas un test certain d'immunité. Bien au contraire, il est souvent plus fort au cours d'une maladie en évolution que chez les convalescents de cette maladie, ou les sujets immuns. Bien plus l'action bactéricide semble nulle vis-à-vis des bacilles en circulation dans l'organisme ;

3° Cela paraît devoir être attribué à ce que, tout au moins dans les bactériémies humaines habituelles, le transport intraleucocytaire des germes pathogènes est la règle. L'englobement des bactéries par les phagocytes est une des conditions de leur survie.

Peut-on concilier de telles conclusions avec la théorie de la phagocytose, et plus généralement avec les conceptions actuelles sur l'immunité dans les maladies infectieuses ? Peut-on les adapter à ce que l'on sait aujourd'hui du mécanisme des septicémies ?

C'est ce que nous allons essayer de faire maintenant.

CHAPITRE III

UN ESSAI D'EXPLICATION DES SEPTICÉMIES MÉDICALES

De nos observations, de nos expériences, se dégage cette idée qu'il y a deux sortes de septicémies, en comprenant ce mot dans le sens très large qu'il est habituel de lui donner en clinique.

Les premières, de beaucoup les plus nombreuses, sont celles où l'examen direct du tapis leucocytaire ne nous a pas montré de microbes car ceux-ci se trouvent dans le sang en très petite quantité. Cependant, seule, la culture de ce tapis se montre fertile à l'exclusion de celle du plasma et des globules rouges.

Les secondes, exceptionnelles, sont celles où le microscope peut déceler directement des bacilles épars, rares ou nombreux, au milieu des leucocytes et des plaquettes, celles aussi où l'ensemencement de toutes les couches obtenues par centrifugation du sang citraté donne des résultats positifs, d'une façon tout à fait comparable à ce qui se passe quand on mêle artificiellement des germes

pathogènes et du sang normal citraté. Nous n'en avons observé que deux cas : ceux déjà cités d'ictère grave à perfringens et de peste.

Ces deux catégories de septicémies sont bien différentes l'une de l'autre. Dans la première les germes ne font que passer dans la circulation générale. Très peu nombreux, soumis à l'action d'un pouvoir bactéricide élevé, ils ne peuvent se développer dans le sang. Il s'agit de bactériémies transitoires plus que de septicémies.

Dans la seconde les germes vivent et se développent dans le sang qui constitue pour eux un milieu de culture favorable. Répétons que ce sont là des cas exceptionnels et le plus souvent mortels.

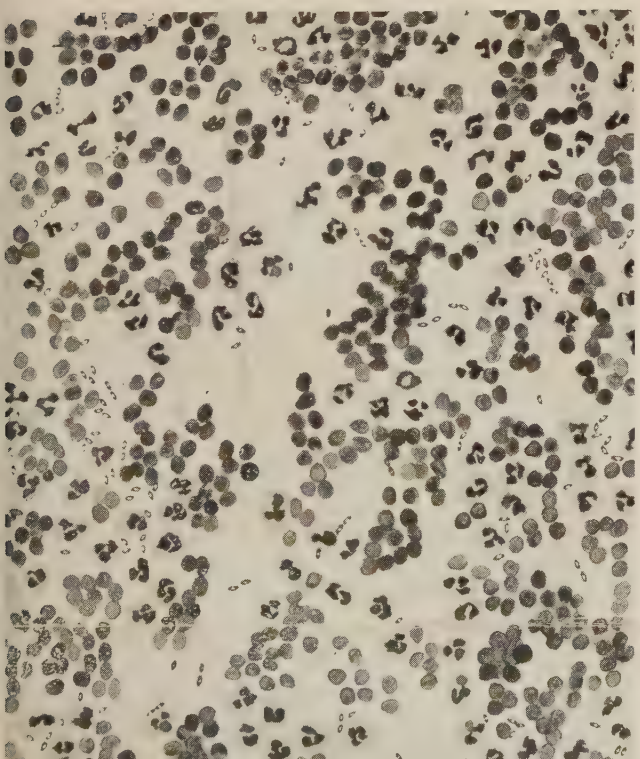
N'est-ce pas là une confirmation de la théorie générale des septicémies émise par Shottmuller et qu'ont confirmée la plupart des expérimentateurs ? Gastinel et Reilly, dans leur remarquable rapport au Congrès Français de Médecine de 1927 l'adoptent dans ses grandes lignes : « Les septicémies, disent-ils, ne sont pas dans la grande majorité des cas, liées à une pullulation microbienne. Elles sont le résultat d'une émigration permanente ou passagère de germes microbiens toujours nouveaux provenant d'un foyer septique ».

Et au nombre des exceptions pour lesquelles ces auteurs admettent la possibilité d'une véritable culture de microbes dans le sang, ils citent les infections à b. perfringens et la peste.

Nous aboutissons également, à la faveur de notre procédé d'ensemencement du sang, à une confirmation des idées de Bull, reprises d'ailleurs et élargies par Govaerts,

Au centre : Ictère grave à bacilles perfringens. Etalement du tapis leucocytaire (Obs. 84).

De chaque côté : Septicémie à staphylocoques. Aspect des microleucocytocultures en gélose de Veillon à la 48e heure (Obs. 67).



Septicémie pesteuse :

Nombreux bacilles libres et isolés entre les leucocytes. Etalement du tapis leucocytaire, coloration au bleu de toluidine (Obs. 84).

L'étude des septicémies expérimentales a permis à ces auteurs de les classer en septicémies stables et en septicémies instables :

Injectons du pneumocoque virulent dans les veines d'un lapin : les pneumocoques restent libres et isolés ; ils se multiplient rapidement et entraînent la mort : Septicémie stable.

Chez le même animal l'injection de streptocoques ou de para B est suivie d'effets différents : Les microbes diminuent en nombre puis sont éliminés en totalité du sang : Septicémie instable.

C'est ce deuxième type de septicémies qui se trouve le plus souvent réalisé au cours des maladies infectieuses de l'homme. Le premier répond à une catégorie beaucoup plus rare, d'infections à germes très virulents et toujours mortels.

*
* *

Tous les expérimentateurs qui ont réalisé chez l'animal des septicémies brutales, stables, mortelles (charbon chez le cobaye, septicémie à pneumocoque chez la souris) se sont rendu compte de ce que, dans ces cas, les microbes se trouvaient très nombreux dans le sang, libres, non phagocytés, non accolés aux plaquettes. C'est exactement ce que nous avons vu chez l'homme au cours de nos cas d'ictère grave à perfringens et de peste.

Comment les choses se passent-elles au cours des septicémies dites instables ? Quels sont les facteurs de cette

instabilité ? C'est surtout par l'étude des infections expérimentales chez l'animal que l'on est arrivé à élucider quelques points de cette partie du problème de l'immunité.

Nous avons vu, dans le précédent chapitre, comment pour Bull, la formation d'amas bactériens, due à l'agglutination, précédait la phagocytose et l'élimination des germes pathogènes. Ce phénomène que l'on observe lorsqu'on injecte une culture de bacilles d'Eberth à un lapin naturellement réfractaire à la typhoïde, que l'on retrouve lorsqu'on injecte du pneumocoque à un lapin préalablement préparé par du sérum antipneumonique, a été, nous l'avons déjà dit, interprété d'une façon toute différente par Delrez et Govaerts. Pour eux, les germes ne s'agglutinent pas, mais ils s'accolent aux plaquettes et c'est à cet emplaquettement que revient le rôle principal dans l'expulsion des germes microbiens.

Ce mécanisme d'ailleurs est général et, on peut l'observer pour toutes les particules organiques que certaines conditions physico-chimiques, en particulier leur tension superficielle, rendent instables dans le milieu sanguin.

Les faits décrits par Govaerts sont incontestables, mais, d'un lumineux rapport de Roskam à la Société de Biologie il résulte que l'accolement aux plaquettes ne suffit pas à expliquer cette instabilité ou tout au moins qu'il doit y avoir autre chose.

Des expériences de Bull, de Mac Nee, de Delcourt-Bernard, de Govaerts lui-même, ont montré que chez les lapins traités par un sérum antiplaquettes ou intoxiqués

par la saponine, l'élimination des germes pathogènes n'est en aucune façon entravée par la raréfaction des globulins. Les mêmes résultats négatifs sont obtenus par Delcourt-Bernard à la suite de l'injection de peptone.

Aussi Govaerts élargit-il sa théorie et admet-il secondairement d'autres mécanismes : La bactériopexie n'est plus le rôle des seules plaquettes. Elle devient aussi le fait des leucocytes et des cellules du système réticulo-endothélial. N'est-elle pas d'ailleurs le premier acte de la phagocytose ?

Dans un article récent Noël Fiessinger envisage dans son ensemble l'action de cette bactériopexie de défense. L'accolement des bactéries aux plaquettes et aux leucocytes, leur englobement par ceux-ci sont autant de facteurs, dont l'ensemble réalise un véritable « coup de filet » grâce auquel les germes microbiens sont emportés soit vers les émonctoires, soit vers les cellules du système réticulo-endothélial qui seront capables de les détruire. Cet acte primordial de la défense organique est rendu possible par la présence dans le sang d'anticorps (agglutines, précipitines, opsonines) qui facilitent l'accolement des bactéries et leur fixation. Le rôles des leucocytes est donc très important, et si, pour une raison ou pour une autre, les bactéries résistent à leur digestion elles n'en sont pas moins immobilisées et fixées.

De ces données tirées de l'étude des septicémies expérimentales, pouvons-nous déduire que tout se passe de la même facon au cours des bactériémies humaines. Rien ne nous semble moins démontré. Dans leurs expé-

riences, Bull, Govaerts et tous les autres auteurs introduisent brusquement dans la circulation une quantité importante de germes microbiens. Sont ce là des conditions comparables à celles qui se trouvent réalisées spontanément au cours de la plupart des maladies infectieuses chez l'homme ?

Ici, il y a toujours un ou plusieurs foyers septiques d'où partent des décharges microbiennes successives. Nous avons vu que très peu de germes se trouvaient simultanément dans le sang.

Le foyer septique n'est pas un réservoir de microbes directement en relation avec le système vasculaire. Que, comme dans la typhoïde, le foyer soit constitué principalement par une atteinte des tissus lymphoïdes de l'intestin et de la rate, que comme dans la pneumonie l'alvéolite pneumococcique soit la lésion initiale, les leucocytes sont mobilisés autour de la lésion et c'est tout d'abord un foyer inflammatoire qui se trouve réalisé.

Ici la phagocytose est toujours intense. C'est ici que se trouve le lieu du combat entre les leucocytes et les bactéries et deux éventualités sont alors possibles :

Ou bien les germes, d'une virulence excessive annihilent les défenses de l'organisme, sidèrent les leucocytes, rendent toute bactériopexie impossible, envahissent le milieu sanguin où ils se multiplient. C'est ce qui se passe par exemple pour la peste. Une septicémie stable et mortelle se trouve réalisée.

Ou bien, et c'est ce qui advient le plus souvent, les germes d'une virulence moindre circonscrits par les phagocytes ou englobés par eux ne peuvent pénétrer

seuls, à travers le barrage qu'ils constituent, dans le système vasculaire. Certains d'entre eux cependant, englobés mais non détruits, résistant à l'action des ferments intraleucocytaires sont emportés avec le leucocyte vecteur, vers les cellules dont l'ensemble constitue le système réticulo-endothélial ou vers les émonctoires.

Quelques germes parviennent-ils néanmoins à pénétrer librement dans le système vasculaire ? Ils sont rapidement happés par les leucocytes ou tout au moins immobilisés par eux.

Et ainsi s'éclairent, pour nous, à la faveur de cette hypothèse, des faits que nous a révélés la microleucocytoculture et qui, au premier abord, nous avaient semblé paradoxaux.

Ainsi nous apparaît logique et vraisemblable ce fait que c'est seulement dans le tapis leucocytaire que se réunissent les germes en circulation dans le sang. Ainsi, ne nous étonnons-nous plus de trouver par la microleucocytoculture au cours d'une pneumonie (obs. 72), et d'un érysipèle (obs. 58), des germes vivants dans le sang, à la veille de la guérison. Le transport intraleucocytaire des bactéries devient un phénomène de défense, un des multiples aspects de l'immunité cellulaire.

Mais, si les bactéries englobées par les leucocytes ne sont pas toutes tuées par ceux-ci, que deviennent celles qui résistent à leur digestion ?

Tout d'abord, beaucoup d'entre elles sont englobées avec les leucocytes vecteurs par toutes les cellules qui constituent le système réticulo-endothélial. Les expériences de blocage réalisées par des injections d'encre

de Chine, par exemple, ont montré le rôle considérable qu'il fallait attribuer à cette immense système dans le problème de l'immunité. Nous-même avons réussi, chez un lapin qui avait reçu trois injections d'encre de Chine diluée au 1/5 à la dose de 1cc. chacune et à 3 jours d'intervalle à provoquer l'apparition d'une ostéite du maxillaire inférieur à bacilles d'Eberth, alors que le lapin témoin supportait admirablement la même dose de culture virulente.

En second lieu, il convient de remarquer à quel point est importante l'élimination bactérienne à la fin des septicémies. Ne cherche-t-on point souvent, en clinique, la clef d'une infection mystérieuse, par l'examen bactériologique des urines ? N'existe-t-il pas à la suite de la typhoïde comme d'ailleurs pendant toute la durée de cette maladie, une quantité extraordinairement grande de bacilles dans la bile ? Et la pyélonéphrite typhique ne survient-elle pas pendant la convalescence, n'est-elle pas une complication de guérison ?

Aussi dans le mécanisme de cette guérison, l'élimination nous paraît-elle aussi importante que la destruction des germes pathogènes et le rôle des leucocytes infectés, dans ce phénomène du transport des bactéries aux émonctoires, ne nous semble-t-il pas négligeable.

Une troisième éventualité peut se réaliser : celle où les leucocytes vecteurs de bactéries vivantes et virulentes s'arrêtent en un point quelconque de l'organisme, dans un viscère, dans un muscle, dans le tissu cellulaire sous-cutané.

Là, ils sont enfin détruits par les germes microbiens

qu'ils transportent. D'autres leucocytes accourent en même temps que les bactéries se multiplient. Un nouveau foyer infectieux métastatique est ainsi créé.

Comme l'a récemment exposé notre maître Noël Fiessinger, que de fois au cours d'une infection à staphylocoques ou à streptocoques a-t-on vu s'atténuer les symptomes dits septicémiques et la guérison s'amorcer au moment où apparaissait spontanément un abcès ! Et cet auteur de se demander, alors à juste titre, si, dans ce cas, l'abcès ainsi constitué, créé par des leucocytes vecteurs de bactéries, point d'appel à son tour pour d'autres globules blancs eux aussi infectés, ne constitue pas, à tout prendre, une dérivation, un émonctoire supplémentaire où seraient éliminés de l'organisme les germes pathogènes.

Créant de même un point d'appel pour les leucocytes infectés, l'abcès de fixation que l'on réalise par l'injection de quelques centimètres cubes d'essence de térébenthine, agit de la même façon. Qu'on n'objecte pas, dit Fiessinger, que ces abcès sont le plus souvent stériles. L'action de la térébenthine suffit à expliquer ce fait.

Que deviennent, dans tout ceci, les défenses humorales ? Nous avons vu à quel point elles favorisent la phagocytose et la bactériopexie. Mais elles interviennent aussi secondairement : Elles consolident la guérison acquise surtout par les cellules de l'organisme et créent alors l'immunité.

Mais celle-ci est longue à s'établir comme le prouve, par exemple dans l'étude de la typhoïde, la fréquence des rechutes et des complications de la convalescence.

*
* *

Au terme de ce dernier chapitre où nous avons échafaudé et défendu tant d'hypothèses, nous sommes un peu impressionné par le manque de preuve absolue, d'arguments décisifs au milieu de tous ceux que nous avons fournis.

Tout au long de ce travail nous avons, cependant, conscience d'avoir apporté quelques faits précis. Et la microleucocytoculture elle-même nous est apparue comme une nouvelle méthode d'investigation, de caractère, certes, paradoxal, mais pleine d'avantages et riche de possibilités. De nouvelles recherches, une plus longue expérience ne pourront, croyons-nous, qu'en étendre les applications.

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

1° La microleucocytoculture est une nouvelle méthode d'hémoculture qui ne porte que sur le tapis leucocytaire obtenu par centrifugation du sang citraté.

2° La technique en est aisée et ne nécessite, en plus du matériel habituel, qu'une solution de citrate de soude à 30 % et une centrifugeuse. L'ensemencement du tapis leucocytaire se fait sur tous les milieux avec la plus grande facilité. La simplicité des ensemencements en milieu anaérobie est un des principaux avantages de la méthode.

3° Nos observations au nombre de quatre-vingt-neuf nous ont permis de dire :

— que la microleucocytoculture est une méthode valable dans tous les cas où un ensemencement du sang est susceptible de rendre des services ;

— que ses résultats sont souvent plus précoces que ceux de l'hémoculture ;

— que dans certains cas la microleucocytoculture est positive alors que l'hémoculture est négative ;

— que les quelques cas que nous avons observés, où

notre méthode s'est montrée inférieure au procédé ordinaire sont dus, sans aucun doute, à une faute de technique.

4° Recherchant une explication théorique des avantages de la microleucocytoculture nous avons attribué certains échecs de l'hémoculture à la présence dans le sang d'un pouvoir bactéricide important.

Nos expériences nous ont montré, au cours de la typhoïde particulièrement, qu'un mélange de plasma et de bacilles d'Eberth à moins de 100.000 germes par centimètre cube ne pouvait pas être ensemencé avec succès après trois heures d'incubation à l'étuve.

Cependant, au cours de cette maladie, il y a à peine quelques dizaines de germes en circulation par centimètre cube de sang. Et ces germes très peu nombreux résistent à la destruction plasmatique.

5° Il nous a semblé que ce fait paradoxal pouvait être attribué d'une part à une adaptation des bactéries au milieu défavorable où elles se trouvent, d'autre part à ce que, tout au moins au cours des bactériémies habituelles de l'homme, les germes sont, dans la circulation, englobés par les leucocytes et même protégés par eux contre le pouvoir bactéricide du plasma.

6° Essayant enfin de faire cadrer les idées que nous avons exposées avec les théories actuelles sur le mécanisme des septicémies nous avons admis avec la majorité des auteurs :

— que dans certains cas rares et mortels il y a une véritable pullulation des germes dans le sang ;

— mais que le plus souvent ceux-ci ne font que passer dans le torrent circulatoire. Il s'agit alors de bactériémies transitoires et non de vraies septicémies.

Notre conclusion générale est que ces décharges microbiennes sont constituées, non par des bactéries libres et isolées, mais par des germes pathogènes englobés par les leucocytes et transportés par eux, encore vivants, vers les émonctoires ou les cellules du système réticulo-endothélial qui les détruiront.

Vu, le Doyen,
BALTHAZARD.

Vu, le Président de la thèse,
LEMIERRE.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

L. Boez et A. Robin — Sur la destruction du pouvoir bactéricide du sang : Application à l'hémoculture (*C. R. Soc. Biol.*, t. CI, p. 1009 à 1012, 13 avril 1929).

L. Boez. — Influence du pH sur le pouvoir bactéricide du sang (*C. R. Soc. Biol.*, 6 juillet 1929, p. 848 à 850).

L. Boez. — Numération des germes du sang dans les septicémies (*Bull. et Mém. de la Soc. Médicale des Hôpitaux de Paris*, p 722, 1924).

L Boez. — Dispositif pour l'hémoculture anaérobie en milieu solide (*C. R. Soc. Biol.*, t XCI, 1924, p. 1276).

J. Bordet. — Contribution à l'étude du sérum antistreptococcique (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1897, p. 177).

J. Bordet. — Traité de l'immunité dans les maladies infectieuses (Masson et Cie, éditeurs, 1920).

J. Bordet. — Immunité-antigènes-anticorps in *Traité de physiologie normale et pathologique*, t. VII (Masson et Cie, éditeurs).

L. Bozendorfer. — Uber das Verhalten des Typhus Bazillen gegenüber der Bakteriziden Kräfte des Blutes (*Deutsch. Archiv. f. Klin. Med.*, 1922, t. CXXXVIII).

Brocq-Rousseu. — Pouvoir bactéricide des sérums normaux (*Revue de pathologie comparée*, 1930, p. 405-414).

Bull. — The fate of typhoïd bacilli when injected intravenously into normal rabbits (*J. Exper. Med.*, t. XXII, p. 475, 1916).

Bull. — The agglutination of bacteria *in vivo* (*Ibid.*, p. 484).

Bull. — Immunity factors in pneumococcus infection in the dog. (*Ibid.*, t. XXIV, 1916, p. 7).

Bull. — Further observations of the agglutination of bacteria in vivo (*Ibid.*, p. 25).

Castellani. — Riforma medica 1900, p. 63-76.

R. L. Cecil, E. E. Nicholls, W. J. Stainsby. — The bacteriology of the Blood and joints in Chronic Infections Arthritis (*Archives of Intern. Medicine*, mai 1929, t. XLIII, p 571-605).

J. Commandon. — Mouvement des leucocytes et quelques tropismes étudiés à l'aide de l'enregistrement cinématographique (*Annales Institut Pasteur*, n° 1, janvier 1920, p. 1 à 24)

P. Courmont et H. Gardère. — Le sérum sanguin des tuberculeux est bactéricide (*Monde Médical*, 17 septembre 1929, n° 755).

J. Delalande. — L'allergie typhique (*Thèse Paris*, 1929, Arnette, éditeur).

P. Delbet et N Fiessinger. — Biologie de la plaie de guerre (*Annales de la clinique chirurgicale du Pr P. Delbet*, 1918, F. Alcan, éditeur).

Delcourt-Bernard. — Contribution à l'étude de la septicémie expérimentale (*Arch. Med Belges*, n° 6, 1922, p. 520).

Delrez et Govaerts. — Le mécanisme de l'élimination des microbes introduits dans la circulation (*Travaux de l'Ambulance Océan*, t. II fasc. 1, juillet 1918, Masson, éditeur).

Delrez et Govaerts. — Globulins et élimination des microbes du sang (*Journal de physiologie et de pathologie générale*, 1921, p 204).

N. Fiessinger et R Cattan. — Le pouvoir bactéricide du sérum et du plasma à l'égard du bacille d'Eberth (*Presse Médicale*, n° 75, 19 septembre 1928, p. 1185 1188).

N. Fiessinger et R. Cattan. — La microleucocytoculture (*Le Sang*, t. III, n° 3, 1929).

N. Fiessinger et R. Cattan. — La microleucocytoculture (*Bull. et Mém. de la Soc. Médicale des Hôp. de Paris*, t. LII, n° 29, 26 octobre 1928).

N. Fiessinger. — La médication leucogène (*Journal des Praticiens*, 1930).

N. Fiessinger. — La bactériopexie de défense dans les septicémies (*Presse Médicale*, 15 juillet 1930).

A. Georgewitch. — Sur le pouvoir bactéricide du sérum humain normal (*C. R. Soc. Biologie*, 16 octobre 1926, t. XCVII, p. 954).

A. Georgewitch. — Sur la mesure du pouvoir bactéricide du sérum humain normal (*C. R. Soc. Biol*, 23 octobre 1926, t. XCVII, p. 1023).

L. Gillot. — Contribution à l'étude de l'infection typhique expérimentale (souris blanche voie intrapéritonéale). (*Thèse Paris*, 1919).

P. Govaerts. — Quelques données expérimentales sur la signification des septicémies (*Presse Médicale*, 25 mai 1928).

P. Govaerts. — La fonction antixénique des plaquettes sanguines (*Archives Internat. de Physiologie*, t. XVI, fasc. 1, 1921).

P. Govaerts. — L'agglutination plasmatique facteur d'instabilité des particules introduites dans la circulation (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, 1921, p. 244).

P. Govaerts. — Un essai d'interprétation des septicémies chirurgicales (Rapport à la Soc. belge de Chirurgie, 29 juin 1925 (*J. de Chirurgie* et *Annales de la Soc. belge de Chirurgie*).

P. Govaerts. — Les septicémies chirurgicales C. R. V^e^ Conférence chirurgicale interalliée in (*Archiv. de Méd. et de Pharm. militaires*, t. LXXI, n° 3, p. 45, 1919).

Gratia A. — Variations microbiennes et infection charbonneuse (*C R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 869, 1924).

P. Hebert et M. Bloch. — Recherches sur la fièvre ty-

phoïde, juillet 1915-janvier 1919, Hôpital central de Bar-le-Duc (*Annales de l'Institut Pasteur,* n° 2, février 1922, p. 156).

J. G. Hopkins et J. T. Parker. — The effect of injections of hemolytic streptococci on susceptible and unsusceptible animals (*Journ. expérim. medic.*, t. XXVI, p. 1, 1918).

G. Howard. — Action lytique du sérum humain vis-à-vis du bacille d'Eberth et virulence de cette bactérie (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, 19 octobre 1920, p. 1266 1267).

Korte et Sternberg. — Weitere untersuchungen über die bacterizide reaction des Blatserums des Typhuskranken (*Deutsch. Arch. f. Klin. Med.*, t. LXXXII, 1905, p. 321).

A. Lemierre. — Un procédé simple d ensemencement du sang (*C. R. Soc. Biol.*, 1903, p. 1296).

A. Lemierre. — L'ensemencement du sang pendant la vie (*Thèse Paris*, 1904).

A. Lemierre. — Uber das Verhalten der im Blüte der Typhuskrankheinten. Nach verbaren Typhusbazillen gegenüber der bakteriziden Virkung des Blute (*Munchener medizine Wochenschrift*, 1906, n° 32, p. 157).

Maurice Nicolle, Ch. Jouan et Debains. — Recherches sur l'action bactéricide des divers sérums antimicrobiens (*Annales Institut Pasteur*, t. XXIII, n° 15, mai 1919, p. 318 335).

Ranque et Senez. — Hémoculture rapide par ensemencement du sang désalexiné (*C. R. Soc. Biol*, 19 avril 1921, t. LXXXIX, p. 709).

Ranque et Senez. — Pouvoir bactéricide (*Annales de la Faculté de Montevideo*, octobre et novembre 1917).

Ch. Richet fils. — Mécanisme de la guérison des maladies infectieuses (*La Médecine*, décembre 1928).

Roskam. — Rôle des globulins en physiologie normale et pathologique (*Rapport à la Réunion plénière de la Soc. de Biol.*, t. XCV, n° 22, 1926).

Sacquepee et J. Perkis. — Le bacille d'Eberth dans le sang des typhiques (*Bull. et Mém. de la S. Médicale des Hôp. de Paris*, 5 juin 1903, p. 638).

Seiffert. - Bezichungen zwischen Schutzimpfung natürlicher Immunitat und spezifischen Serumstoffen bei Typhus (*Deutsch. Med. Wochen*, 1917, p. 767).

Shottmuller. — Wesen und behandlung der Sepsis-Verbandlungen des Deutschen Kongress fur unvere Medizin. Wiesbaden 1914.

Shottmuller. — Das problem der Sepsis. Testchrift der obenartze des eppendorfer Krankenhauser. Hamburg 1914.

Tarassevitch. — Propriétés phagocytaires des leucocytes in *Traité du sang*, Gibert et Weimberg (Baillière, 1913, p. 279).

Topfer et Jaffe. — Untersuchungen über Beziehungen von Baktericide in vitro und in Tierversuch au Typhus und Paratyphusbacillen mit verschievenen specifischen Serumproben (*Zeitsch. f. Hyg.*, t. LXII, 1906, p. 393).

F. Widal. — Etude sur les vaccinations antityphoïdiques et anti-paratyphoïdiques (*Presse Médicale*. n° 38, 19 août 1915).

F. Wulff. — L'action du sérum normal et du plasma sur les diverses bactéries (*Acta Medica Scandinavica*, 15 avril 1924).

Zoeller. — Les hémocultures : Technique, résultats, interprétation (*Paris Médical*, 14 avril 1928, n° 15).

TABLE DES MATIÈRES

Du même Auteur 11
Avant-Propos 15

PREMIÈRE PARTIE :

Microleucocytoculture : technique et résultats :

Chap. I. — Technique 21
Chap. II. — Observations 28
Chap. III. — Valeur de la microleucocytoculture 64

DEUXIÈME PARTIE :

De la microleucocytoculture à une théorie générale des septicémies médicales :

Chap. I. — Le pouvoir bactéricide du plasma 73
Chap. II. — Leucocytes et bactéries 85
Chap. III. — Un essai d'explication des septicémies médicales 101
Conclusions 113
Bibliographie 119

1930. St-Amand (Cher). Imprimerie A. CLERC.